



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS

DEPARTAMENTO DE FÍSICA

Tesis presentada para optar al grado de Doctor de la Facultad de Ciencias Exactas
(Área Física)

**Propiedades de ferrofluidos con potencial aplicación biomédica: Preparación, estudio
y optimización de su respuesta a campos magnéticos estáticos y alternos.**

GUILLERMO ARTURO MUÑOZ MEDINA

Director: Prof. Dr. Francisco H. Sánchez.

2017

Tabla de contenido

Resumen

Abstract

Capítulo 1: Motivación y justificación

1.1 Referencias

Capítulo 2: Marco teórico

2.1 Fundamentos de mecano-síntesis

2.1.1 Modelamiento del proceso de molienda

2.1.2 Variables principales del proceso de molienda

2.2 Síntesis de nanopartículas de hierro (Fe) por mecano-síntesis

2.3 Materiales magnéticos

2.3.1 Materiales ferrimagnéticos

2.3.2 Materiales ferromagnéticos

2.3.3 Dominios magnéticos

2.3.4 Nanopartículas magnéticas

2.3.5 Superparamagnetismo

2.3.6 Interacción dipolar magnética

2.3.7 Velocidad específica de absorción (SAR)

2.3.7.1 Relajación magnética de partículas coloidales

2.3.8 Modelos de campo medio para el tiempo de relajación de Néel

2.3.8.1 Modelo de campo medio de Landi

2.3.8.2 Modelo de campo medio de Dormann-Bessais-Fiorani (DBF)

2.3.9.3 Modelo de campo medio de superparamagnetos interactuantes

2.4 Nanopartículas magnéticas aplicadas en medicina

2.4.1 Hipertermia magnética

2.4.1.1 Obtención de materiales para hipertermia magnética

2.4.1.2 Recubrimiento de nanopartículas magnéticas

2.4.1.3 Tiempos característicos vinculados a la disipación de potencia bajo irradiación con un campo de radiofrecuencia

2.4.2 Distribución inteligente de agentes terapéuticos

2.5 Referencias

Capítulo 3: Materiales y métodos

3.1 Metodología de trabajo

3.1.1 Etapa 1: Obtención de las nanopartículas de hierro (Fe)

3.1.2 Etapa 2: Disolución de las sales

3.1.3 Etapa 3: Recubrimiento de Fe₃O₄

3.1.3.1 Cálculos para obtener el recubrimiento de Fe₃O₄

3.1.4 Etapa 4: Estabilización del sistema Fe/Fe₃O₄

3.1.4.1 Procedimiento de estabilización con citrato de sodio

3.2 Técnicas de caracterización

3.2.1 Espectroscopía Mössbauer (EM)

3.2.2 Magnetometría de muestra vibrante (VSM)

- 3.2.3 Difracción de rayos X (DRX)
- 3.2.4 Dispersión de rayos X a bajos ángulos (SAXS)
- 3.2.5 Dispositivo de interferencia cuántica (SQUID)
- 3.2.6 Potencial Z
- 3.2.7 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)
- 3.2.8 Difracción de electrones (DE)
- 3.2.9 Dispersión dinámica de luz (DLS)
- 3.2.10 Velocidad específica de absorción (SAR)
- 3.3 Separación magnética
- 3.4 Pruebas de viabilidad celular
- 3.5 Referencias

Capítulo 4: Resultados y discusión

- 4.1 Obtención de las nanopartículas de hierro: molino oscilatorio Retsch 2000
 - 4.1.1 Espectroscopia Mössbauer (EM)
 - 4.1.2 Difracción de rayos X (DRX)
 - 4.1.3 Magnetometría de muestra vibrante (VSM)
 - 4.1.4 Conclusión preliminar
- 4.2 Escalamiento de la producción de nanopartículas de hierro: molino planetario Pulverisette 7
 - 4.2.1 Espectroscopia Mössbauer (EM)
 - 4.2.1.1 Maximización de la producción de hierro metálico
 - 4.2.2 Difracción de rayos X (DRX)
 - 4.2.3 Magnetometría de muestra vibrante (VSM)
 - 4.2.4 Conclusión preliminar
- 4.3 Sistema Fe/Fe₃O₄@CitNa estabilizado
 - 4.3.1 Magnetometría de muestra vibrante (VSM)
 - 4.3.1.1 Separación magnética
 - 4.3.2 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)
 - 4.3.3 Difracción de electrones (DE)
 - 4.3.4 Potencial Z
 - 4.3.5 Dispositivo de interferencia cuántica (SQUID)
 - 4.3.5.1 Ciclos ZFC-FC
 - 4.3.5.2 Ciclos ZFC-FC muestras separación magnética
 - 4.3.5.3 Medidas isothermas M vs H a diferentes temperaturas
 - 4.3.6 Dispersión de rayos X a bajos ángulos (SAXS)
 - 4.3.7 Dispersión dinámica de luz (DLS)
 - 4.3.8 Velocidad específica de absorción (SAR)
 - 4.3.8.1 Estudio del SAR en muestras diluidas
 - 4.3.9 Pruebas de viabilidad celular
- 4.4 Referencias

Conclusiones

Agradecimientos

Apéndices

RESUMEN

En el presente trabajo de tesis doctoral se reporta la obtención del sistema coloidal $\text{Fe}/\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CitNa}$ para aplicaciones potenciales en biomedicina y en particular en hipertermia magnética. El sistema se obtuvo en 3 etapas. En la primera se buscaron las mejores condiciones para obtener núcleos de hierro (Fe) metálico nanométricos por mecano-síntesis en un molino oscilatorio Retsch 2000. En la segunda etapa, se escaló la producción de Fe metálico en un molino Pulverisette 7, alcanzando un rendimiento hasta 16 veces mayor que la alcanzada en el modelo oscilatorio. Los polvos obtenidos en las dos primeras etapas fueron caracterizados por espectroscopía Mössbauer, difracción de rayos X y magnetometría de muestra vibrante. Por último, en la tercera etapa, se creció un recubrimiento de magnetita (Fe_3O_4) sobre los núcleos de Fe los cuales fueron estabilizados electrostáticamente con citrato de sodio (@CitNa) en una suspensión acuosa. Los sistemas coloidales estabilizados fueron cuidadosamente estudiados por: dispersión de rayos X a bajos ángulos (SAXS), difracción de electrones (DE), microscopía electrónica de transmisión tradicional y de alta resolución (TEM y HR-TEM), magnetometría de muestra vibratoria (VSM), potencial Z, dispersión dinámica de luz (DLS), dispositivo superconductor de interferencia cuántica (SQUID) e irradiación con campo magnético de radiofrecuencia. También se hizo un experimento de separación magnética con el fin de obtener varias clases de partículas con distribuciones de tamaños más angostas, lo que permitiría ampliar el rango de aplicaciones del sistema estabilizado. Finalmente, se hizo un estudio de citotoxicidad para verificar la viabilidad del sistema en aplicaciones biomédicas.

ABSTRACT

In the present PhD thesis work the production of a Fe/Fe₃O₄@CitNa colloidal system aimed to potential application in biomedicine and in particular in magnetic hyperthermia, is reported. The system was obtained in three steps. In the first one the best conditions to fabricate nanometric metallic iron (Fe) nuclei by mechanosynthesis with an Retsch 2000 oscillating mill were sought. In the second step the metallic Fe production was scaled using a Pulverisette 7 mill, reaching a yield up to 16 times larger than the one attained with the oscillatory model. Powders obtained in the first two steps were characterized by Mössbauer spectroscopy, X-ray diffraction and vibrating sample magnetometry. Finally, in the third step, a magnetite (Fe₃O₄) coating was grown on the Fe nuclei which were electrostatically stabilized in aqueous suspension with sodium citrate (@CitNa). These stabilized colloidal systems were carefully studied by: small angle X-ray scattering (SAXS), electron diffraction (ED), transmission electron microscopy, traditional and high resolution (TEM and HR-TEM), vibrating sample magnetometry (VSM), Z potential, dynamic light scattering (DLS), superconducting quantum interference device (SQUID) and irradiation with radiofrequency magnetic field. An experiment of magnetic separation aimed to obtain several particles classes with narrower size distributions, which will extend the applications of the stabilized system, was also performed. Finally, a cytotoxicity study was carried out to verify the system viability for biomedical applications

*“Valor es lo que se necesita para levantarse y hablar;
pero también es lo que se requiere para sentarse
y escuchar”.*

Winston Churchill (1864 - 1965)

Capítulo 1. MOTIVACIÓN Y JUSTIFICACIÓN

El uso de materiales para tratar enfermedades o lesiones corporales ha sido una constante a través de la historia de la humanidad. Con el avance de la ciencia y la tecnología, se ha incrementado la investigación y aplicaciones en materiales de tamaño nanométrico, los cuales tienen múltiples usos, incluyendo la medicina. Pero el uso de estos materiales para dicha aplicación debe ser regulado y estudiado rigurosamente, ya que si son usados de forma incorrecta pueden causar más problemas que soluciones. En ese sentido existen múltiples esfuerzos alrededor del mundo para desarrollar materiales que puedan tener aplicaciones biomédicas. Dichos materiales son conocidos como *biomateriales*, los cuales se definen, según el consenso alcanzado en el Consensus Conference of the European Society for Biomaterials celebrado en Chester (Inglaterra) en Marzo de 1986, como “cualquier sustancia o combinación de sustancias (a excepción de los fármacos), de origen natural (tejidos o proteínas animales) o sintético (metales, polímeros o cerámicos), que puedan ser usados por algún periodo de tiempo, como todo o como una parte de un sistema que trata, aumenta, o reemplaza algún tejido, órgano o función del cuerpo” [1].

Una de las enfermedades que más impacto tiene sobre la población es el cáncer. Por lo que se hacen múltiples esfuerzos en desarrollar tratamientos o procedimientos que permitan combatir esta terrible enfermedad. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el cáncer es una de las principales causas de muerte en los seres humanos, pudiéndosele atribuir una cifra aproximada de 8.2 millones de decesos en 2012 [2]. De esta cifra los que causan más muertes son los que afectan a los pulmones, hígado, estómago, colon y mama. Cabe resaltar que los tipos de cáncer más frecuentes son independientes del sexo, teniendo como factores de riesgo el tabaquismo, índice de masa corporal elevado, consumo insuficiente de frutas y verduras, falta de actividad física, etc. En las ciencias médicas se han desarrollado tratamientos como la quimioterapia y radioterapia, y procedimientos como cirugías preventivas, como en el caso del cáncer de mama o útero [2]. Sin embargo, y en vista de los efectos colaterales de los tratamientos anteriormente mencionados, se han hecho esfuerzos en el desarrollo de terapias complementarias, como es el caso de la *hipertermia magnética*. Esta terapia se fundamenta principalmente en la mayor tolerancia a una alta temperatura (46°C) por parte de las células sanas, en comparación con los 42°C que soportan las células cancerosas, aproximadamente [3]. El objetivo fundamental de la hipertermia magnética es aumentar la temperatura mediante el uso de un campo magnético de alta frecuencia. Por tanto, se requiere de un material que presente respuesta magnética, y debido a que se trata de un procedimiento con fines médicos, dicho material debe ser biocompatible. En base a esto, se ha venido trabajando desde hace varias décadas con óxidos de hierro como magnetita y maghemita, las cuales presentan biocompatibilidad y baja toxicidad para el cuerpo humano [4]. En este sentido existen múltiples esfuerzos alrededor del mundo, donde se financian proyectos para combatir el cáncer, por ejemplo, la *European Investment Fund* acaba de aprobar EUR 35 millones a tres años para combatir el glioblastoma, que es el tipo de cáncer de cerebro más agresivo [5]. Este tipo de esfuerzos hace que el desarrollo de la terapia por hipertermia magnética esté en el primer plano para las aplicaciones oncológicas.

Los sistemas coloidales de nanopartículas magnéticas (NPM), presentan propiedades que los hacen aptos para la hipertermia magnética debido a sus sobresalientes propiedades como disipadores de calor. Debido a sus bajas dimensiones, permiten atacar tumores de manera localizada. En ese sentido se desarrolló el sistema Fe/Fe₃O₄ que es el objeto de estudio de la presente tesis doctoral.

El contenido de esta tesis doctoral se enumera a continuación:

Capítulo 2: Se presenta el marco teórico sobre el que se va a fundamentar el análisis de los resultados experimentales de la tesis.

Capítulo 3: Se detallan los métodos e hipótesis que se usaron para obtener el sistema Fe/Fe₃O₄@CitNa, desde la obtención del núcleo de hierro, pasando por el recubrimiento de magnetita (Fe₃O₄) y finalizando con la estabilización con citrato de sodio (CitNa). Además, se describe un experimento de separación magnética el cual se implementó con el fin de obtener distribuciones de tamaño más acotadas. Finalmente, se describen las distintas técnicas de caracterización usadas en las distintas etapas de esta tesis, así como, los principios de funcionamiento de las mismas.

Capítulo 4: Se presentan los resultados experimentales obtenidos con las técnicas empleadas: espectroscopia Mössbauer (EM), difracción de rayos X (DRX), dispersión de rayos X a bajos ángulos (SAXS), difracción de electrones (DE), microscopía electrónica de transmisión tradicional y de alta resolución (TEM y HR-TEM, respectivamente), magnetometría de muestra vibratoria (VSM), dispositivo superconductor de interferencia cuántica (SQUID), irradiación con campo magnético de radiofrecuencia (SAR), y finalmente, pruebas de viabilidad celular con el sistema estabilizado.

La presente tesis doctoral nació a partir de la necesidad de buscar un sistema coloidal que tuviese un SAR más alto que los sistemas que se venían trabajando en el grupo, y que además tuviera el potencial para ser usado en aplicaciones médicas.

Debido a razones de índole laboral este trabajo tuvo que desarrollarse y concretarse en poco más de dos años. En ese tiempo hice, con la asesoría del Prof. Dr. Francisco H. Sánchez, todos los diseños experimentales de las moliendas y se plantearon las hipótesis para la obtención de mayor cantidad de núcleos de Fe hasta la fase final de estabilización. Además, el seguimiento con caracterizaciones en cada una de las etapas se hizo con mi presencia directa, ya sea manejando los equipos que pertenecen a los distintos grupos de investigación o redes de usuarios a nivel nacional, o asesorando en el diseño de la medida. Todos los análisis de datos fueron hechos por mi parte en cada una de las etapas de esta investigación. Se hicieron colaboraciones para poder realizar algunas medidas, como con el Dr. Diego Muraca quien hizo las medidas de HR-TEM en el laboratorio LNNano de la Universidad de Campinas (Brasil). Por otro lado, la Prof. Dra. Marcela Fernández van Raap hizo medidas de DLS, potencial Z, TEM y difracción de electrones en el Instituto de Ciencia de los Materiales de Barcelona (ICMAB) dirigido por la Dra. Ana Roig. Finalmente, las pruebas de citotoxicidad fueron hechas por la Biol. Paula Andrea Soto en el Instituto de Química y Fisicoquímica Biológicas (IQIFIB) de la Universidad de Buenos Aires, dirigido por la Dra. Patricia Setton.

1.1 Referencias

- [1] B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemmons. "Biomaterials science: an introduction of materials in medicine". Academic Press. Edition 1. Pág: 4. 1996.
- [2] OMS | Datos y cifras sobre el cáncer - 2012. 30 marzo de 2017.
<http://www.who.int/cancer/about/facts/es/>
- [3] P. Wust, B. Hildebrandt, G. Sreenivasa, B. Rau, J. Gellermann, H. Riess, R. Felix, P.M. Schlag. "Hyperthermia in combined treatment of cancer". THE LANCET oncology. Vol: 3. Págs: 487 – 497. 2002.
- [4] H. Markides, M. Rotherham, A. J. ElHaj. "Biocompatibility and Toxicity of Magnetic Nanoparticles in Regenerative Medicine". Journal of Nanomaterials. Vol: 2012. Págs. 11. 2012.
- [5] European Investment Fund - 31 de agosto de 2017.
<http://www.eib.org/infocentre/press/releases/all/2017/2017-221-investment-plan-for-europe-eib-backs-german-cancer-therapy-developer-magforce-with-up-to-eur-35m>

*“Un hombre que a los 50 ve la vida igual de manera que a los 20
ha perdido 30 años de vida”.*

Muhammad Ali (1942 - 2016)

Capítulo 2: MARCO TEÓRICO

En este capítulo se presentan los fundamentos de la mecano-síntesis que es la vía por la cual se obtienen los granos de Fe que constituyen el núcleo de las nanopartículas de Fe/Fe₃O₄@CitNa. Con estas nanopartículas se fabrica el coloide estable que constituye el producto final de esta investigación. También se presentan los modelos que describen la respuesta magnética de nanopartículas (NP) a un campo magnético y los fundamentos de la hipertermia magnética que es la aplicación que se busca para el sistema anteriormente mencionado.

2.1 FUNDAMENTOS DE MECANOSÍNTESIS

La mecano-síntesis (**MS**) es un procedimiento de síntesis en estado sólido que se desarrolló en la década de los 60's, uno de los primeros autores en reportar este tipo de síntesis fue J. S. Benjamin [1]. Inicialmente se usó para obtener superaleaciones a base de níquel, permitiendo obtener materiales o aleaciones debido al impacto y rozamiento entre esferas metálicas o cerámicas y la cámara de procesamiento [2]. Dicho proceso tiene 3 aplicaciones principalmente: Molienda mecánica (**MM**), aleación mecánica (**AM**), y reacción por molienda (**RM**). **MM** se refiere al fresado de un metal puro o compuesto. La **AM** se refiere específicamente a la formación de aleaciones a partir de precursores elementales durante el procesamiento en un molino de bolas. Por último, la **RM** se utiliza para inducir una determinada reacción química mediante un procesamiento mecánico. Durante el proceso de molienda ocurren procesos de fractura, soldadura y reducción de tamaño acompañados de interdifusión en estado sólido, que conducen ya sea a la formación de una aleación o al progreso de una reacción química, dando lugar a la formación de una o más fases producto. En el caso presente, el proceso que tiene lugar es la **RM** a través de la cual se obtiene hierro alfa (α -Fe) a partir de los reactivos FeCl₃, Mg y NaCl. Esto se profundizará más adelante.

Para lograr una mecano-síntesis exitosa, se deben tener en cuenta distintas condiciones experimentales. Entre las principales están: 1) Relación de masas entre esferas y reactivos. 2) Tiempo de molienda. 3) Volumen ocupado por las esferas y los reactivos. 4) Radio de las esferas. Para este último ítem, se pueden usar esferas con distintos tamaños para inducir desorden en la molienda, evitando así la ocurrencia de arreglos ordenados de dichas esferas que limitan el aprovechamiento de la potencia mecánica [3]. El procesamiento mecánico consiste en colocar los reactivos dentro del reactor en donde están alojadas las esferas de molienda (Fig. 2.1.). El molino al iniciar su movimiento ya sea de manera oscilatoria o planetaria, hace que las esferas choquen entre sí, además de hacerlo con las paredes y reactivos, lo cual favorece la interdifusión de elementos y la obtención de las fases finales.

Uno de los principales atributos del procesamiento por **MS**, es la versatilidad en el procesamiento de materiales, los cuales incluyen refinamiento de metales, producción de polvos ultrafinos, síntesis de nuevas fases cristalinas o amorfas, etc. También destaca la posibilidad de un relativo fácil escalamiento del proceso, el cual se puede hacer con temperaturas no muy altas, las cuales son requeridas en algunos otros métodos de síntesis [4].



Fig. 2.1. (a) Reactor del molino oscilatorio Retsch 2000. (b) Reactor del modelo Pulverisette 7, usados en esta investigación.

Uno de los modelos que se sigue para entender el proceso de molienda es el conocido como “bombeo de solutos por dislocaciones” [5]. Esto se puede entender como que debido al impacto generado se empiezan a generar superficies limpias y reactivas, además de una gran densidad de dislocaciones por donde pueden difundir los reactivos favoreciendo la síntesis. En nuestro caso esto se combina con la obtención de un estado crítico en el cual la reacción se autopropaga.

2.1.1 Modelamiento del proceso de molienda

Durante el desarrollo de esta tesis se usaron dos molinos, el primero, el modelo Retsch 2000 cuyo movimiento es oscilatorio, y el segundo, el molino planetario Pulverisette 7. En la literatura existen múltiples trabajos reportados donde se modela el proceso de molienda, ya sea de manera oscilatoria [6] o de cualquier otro tipo [7-10].

Respecto al modelamiento existe un consenso de que, independientemente del tipo de molienda, es necesario definir las variables más importantes del proceso de molienda. Por esa razón algunos autores adoptaron el trabajo de Y. Cheng et. al. [8], el cual resume dicho proceso en términos de los elementos y características generales del proceso de molienda y termina introduciendo la definición de *intensidad específica de molienda* (I^*). El gran aporte de esta generalización es que hace más sencillo el estudio y modelamiento del proceso de mecanosíntesis, además de ser independiente del molino usado. Y. Cheng definió la intensidad específica de molienda como:

$$I^* = \frac{M_b v_{max} f}{M_p}, \text{ Ec. 2.1.}$$

Donde M_b es la masa de las esferas de molienda, v_{max} es la velocidad máxima de la esfera, f es la frecuencia de trabajo del molino y M_p es la masa de los reactivos. Una de las características que se resalta en este modelo es que se puede normalizar la intensidad específica de molienda en función de la masa de polvos, ya que la frecuencia de impactos sobre una partícula debería disminuir al aumentar la cantidad de polvos. Esta última afirmación se comprobó en la Ref. [8]. La principal ventaja de este tipo de análisis es que se puede predecir fácilmente la viabilidad de un experimento ya que los valores de las variables necesarias para calcular I^* se pueden obtener de manera rápida.

Cabe resaltar que este análisis ha sido adoptado por distintos investigadores alrededor del mundo, los cuales han trabajado en molinos oscilatorios como M. Meyer et. al.

[10], y en molinos planetarios como P. Pochet et. al [9]. A continuación, se presentan los esquemas de los modelos usados durante el presente trabajo de investigación:

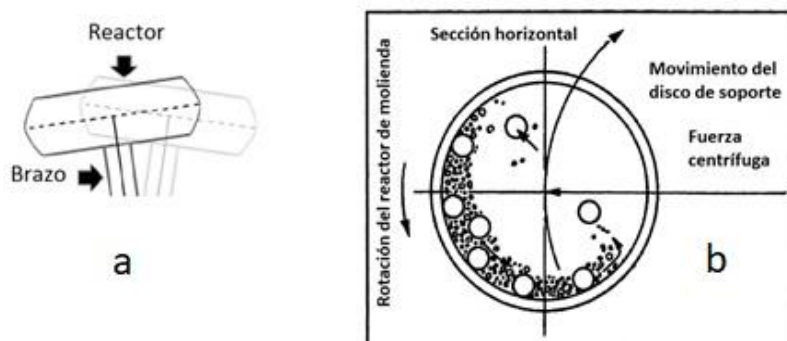


Fig. 2.2. (a) Esquema molino oscilatorio. Tomado de Ref. 5. (b) Esquema molino planetario. Tomado de Ref. 2.

Para el caso del molino oscilatorio se hace una simplificación del movimiento al modelarlo como si se desplazara en el eje horizontal, el modelo para este tipo de molino se encuentra en la Ref. [6]. Para el caso del molino oscilatorio, el análisis es mucho más complejo debido al movimiento interno de las esferas y polvos de trabajo. En él el movimiento de las esferas da lugar a rodadura e impactos sobre las paredes del reactor y los reactivos, por lo que, para evitar el acomodamiento de las esferas en patrones regulares dentro de los reactores, tipo cadena o franja, que darían lugar a movimientos repetitivos, se suelen usar esferas de distintos radios para generar desorden [2].

Para este caso la energía de impacto va a depender de la velocidad del molino, pudiéndose alcanzar hasta 20 g de aceleración. Si la velocidad del molino disminuye, las esferas pierden velocidad y no hay un proceso de molienda, sólo se presentaría un efecto de mezcla de reactivos [3]. La elección de la velocidad del molino dependerá del experimento que se quiera desarrollar. El esquema del proceso de molienda que se describió puede ser observado en la Fig. 2b. Finalmente, se debe mencionar que, debido a la geometría del molino planetario, los reactores van a rotar con el doble de la velocidad angular del disco que los soporta (Fig. 2.3).

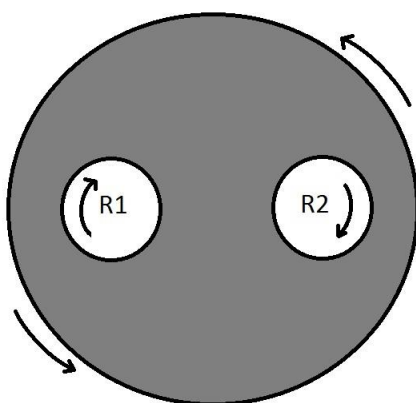


Fig. 2.3. Esquema molino planetario.

2.1.2 Variables principales del proceso de molienda

Para describir y analizar el proceso de molienda es necesario tener en cuenta las siguientes variables: (1) intensidad específica de molienda, (2) frecuencia de oscilación o de rotación, (3) atmósfera de trabajo, (4) relación de masas entre esferas y reactivos y (5) tiempo de molienda, principalmente.

De las variables anteriormente mencionadas ya se analizó la (1) en la sección anterior. Por lo que nos centraremos en las 4 siguientes [2].

- *Frecuencia de oscilación o rotación:* Esta frecuencia se relaciona directamente con la energía cinética de las esferas, y, por tanto, con la energía transmitida durante el proceso de molienda. Durante dicho proceso se puede variar la frecuencia de trabajo del molino, lo que trae como consecuencia un aumento o disminución de la velocidad de las esferas, permitiendo aumentar o disminuir la intensidad específica de molienda, como se puede deducir a partir de la Ec. 2.1. Dicho aumento o disminución de la energía, entregada por impacto o rodadura de las esferas, va a tener una consecuencia directa en las propiedades finales de los polvos o fases obtenidas durante el proceso de mecanosíntesis.
- *Atmósfera de trabajo:* Esta es una de las variables más importantes para el proceso de molienda. Se puede escoger un ambiente de trabajo limpio (generalmente argón), o atmósferas de trabajo reactivas como el nitrógeno, hidrógeno u oxígeno. Se recomienda hacer una purga de las líneas por donde se carga el gas de trabajo, para luego hacer lo mismo en los reactores y tener finalmente la atmósfera adecuada para cada aplicación.
- *Relación masa de esferas – reactivos:* Esta variable está directamente relacionada con el tipo de molino y su velocidad de rotación. A una velocidad constante y una mayor relación de masas, se puede transmitir mayor energía al sistema. En nuestro caso fue uno de los parámetros fundamentales, esto será detallado en la sección de resultados y discusión.
- *Tiempo de molienda:* Esta variable se refiere al tiempo de procesamiento y será una de las que estudiaremos durante el proceso de escalamiento de la producción de núcleos de Fe descrito en el capítulo 4.

2.2 SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE HIERRO (Fe) POR MECANOSÍNTESIS

El proceso de síntesis de NPs por MS ha sido ampliamente usado por distintos grupos de investigación alrededor del mundo. Dicho proceso suele presentar el inconveniente de conducir a materiales polidispersos con importantes distribuciones de tamaño, y de favorecer la formación de agregados de NPs de escala micrométrica. Sin embargo, un importante avance ha sido el reportado recientemente por McCormick et al. [11], quienes empleando reacciones de estado sólido fuertemente exotérmicas en presencia de un diluyente sólido inerte han logrado sintetizar NPs de metales magnéticos (Fe, Ni, Co) con distribuciones estrechas de tamaño y evitando los procesos de agregación.

Para la síntesis de metales magnéticos McCormick et. al., proponen las reacciones que se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 2.1 Ejemplos de reacciones mecanoquímicas y sus entalpías asociadas [12].

Reacción	ΔH (kJ/mol)
$\text{FeCl}_3 + 3\text{Na} \rightarrow \text{Fe} + 3\text{NaCl}$	-884
$\text{CoCl}_2 + 2\text{Na} \rightarrow \text{Co} + 2\text{NaCl}$	-495
$\text{NiCl}_2 + 2\text{Na} \rightarrow \text{Ni} + 2\text{NaCl}$	-507
$\text{CuCl}_2 + 2\text{Na} \rightarrow \text{Cu} + 2\text{NaCl}$	-595

Como se nota en la tabla 2.1, las reacciones que se plantean involucran un reactivo que contiene un átomo magnético que al reaccionar con Na produce sal común y el metal magnético. Sin embargo, el Na metálico es un elemento muy difícil de manipular, ya que es altamente reactivo y debe mantenerse inmerso en querosene, lo que dificulta su manipulación, en particular su pesaje. También se deduce, a partir de la tabla 1.1, que es una reacción exotérmica y altamente energética lo que posibilita procesos de auto-combustión, por lo que se hace necesario el uso de un dispersante no reactivo, por ejemplo, sal común (NaCl) u otro tipo de sal [12 - 16]. Se intuye, por tanto, que el uso de la sal también contribuye a evitar los efectos de aglomeración propios de otras rutas de molienda.

Los trabajos de McCormick se hicieron en el molino Spex 8000, en los cuales se experimentó variando la relación entre la masa de las esferas y la de los reactivos, el diámetro de las esferas, el volumen de llenado del recipiente de molienda, el tiempo de molienda y la frecuencia del molino. La relación entre masas y el volumen de llenado del recipiente, sirven para estimar la energía mecánica que es entregada a los reactivos, la cual finalmente permite la obtención de las NPs. Por otro lado, encontraron que si el diámetro de las esferas es ≥ 9 mm se presenta combustión durante la molienda [16]. Las NPs obtenidas fueron estudiadas por espectroscopia Mössbauer, difracción de rayos X (DRX), microscopía electrónica de transmisión (TEM) y curvas de Magnetización versus Campo (M vs H).

Inicialmente se reseñan estudios por espectroscopia Mössbauer y difracción de rayos X de NPs, realizados con la finalidad de detectar el Fe y posibles fases no deseadas [13]. Para el primer caso, fue necesario hacer una medida del compuesto precursor del Fe (FeCl_3 anhidro) y de la muestra obtenida después de molienda. Con esto se pudo inferir si quedaba FeCl_3 no consumido en la reacción y también se pudo verificar la formación de Fe. Se ha reportado que el espectro Mössbauer del FeCl_3 se caracteriza por un singlete con un corrimiento de 0.41 mm/s [17]. El hierro por su parte tiene un sextete característico. Adicionalmente se encontró un doblete paramagnético con un corrimiento de 0.82 mm/s, y un desdoblamiento cuadrupolar de 1,4 mm/s [12]. Este doblete afecta la línea 4 del sextete característico del Fe, y va a ser de vital importancia en esta tesis, debido a que su presencia nos va a permitir determinar si hay una reacción completa, esto se explicará detalladamente en el capítulo 4.

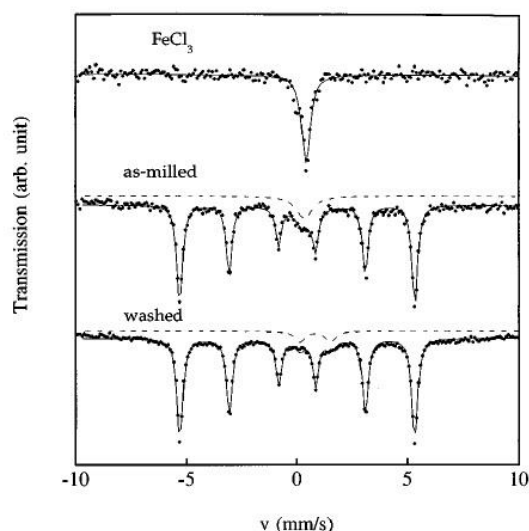


Fig. 2.4. Espectro Mössbauer del FeCl_3 y del resultado de la molienda con y sin lavar. Tomado de Ref. 13.

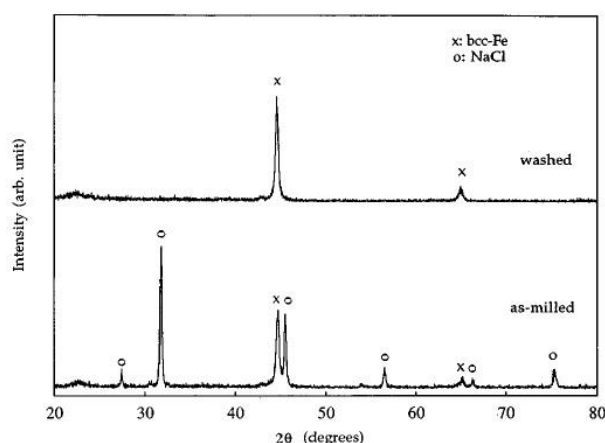


Fig. 2.5. Difracción de rayos X de NPs de Fe obtenidas por mecano-síntesis. Tomado de Ref. 13.

En las Fig. 2.4 y Fig. 2.5, se muestran los espectros Mössbauer y los difractogramas de NPs de Fe reportados por McCormick en la Ref. 7. En el primero, se muestra un estudio con espectroscopia Mössbauer del compuesto precursor de Fe, del material obtenido en la molienda y del material lavado. Cabe resaltar que dicho lavado se hace para diluir la sal que se obtiene como producto de la reacción, y la sal agregada para atenuar la reacción explosiva, así como para evitar la agregación de partículas, como es reportado por McCormick. Para el caso de la difracción de rayos X (Fig. 2.3), se hacen medidas con y sin lavar.

Por otro lado, en la caracterización hecha por DRX del material obtenido después de la molienda y del lavado, se observan, en el primer caso, los picos asociados al NaCl y al Fe en las posiciones esperadas para dichas fases. En el segundo caso, desaparecen los picos asociados al NaCl, lo que indica que se eliminó esta fase.

Después de verificar la presencia de Fe y la ausencia de fases indeseables por DRX, se pasa a verificar el tamaño de las NPs. Para ello, se puede usar la Microscopía

Electrónica de Transmisión (TEM) que es una técnica de caracterización que permite observar en imágenes partículas de tamaño nanométrico. A continuación, se muestran imágenes con NPs obtenidas por mecano-síntesis de Fe y Ni reportadas por McCormick et. al., en la imagen se puede estimar que las partículas tienen un diámetro de 10 nm aproximadamente.

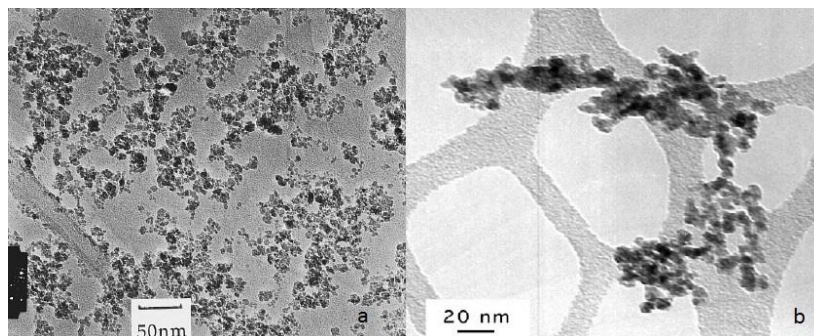


Fig. 2.6. Imágenes TEM. a) NPs de Fe después del lavado. b) NPs de Ni. Tomado de Ref. 13.

Por último, se presenta un ciclo de histéresis magnética en la Fig. 2.7. En dicha figura se hace una comparación entre el material recién molido y el material lavado.

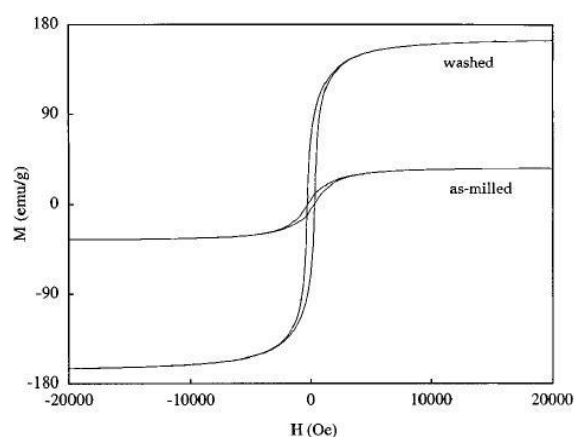


Fig. 2.7. Ciclo de histéresis del material sintetizado. Tomado de Ref. 13.

Del ciclo se obtiene que el material sin lavar tiene una magnetización de saturación de 36.7 emu/g, este valor está por debajo del valor medido en los polvos lavados, los cuales tienen una M_s de 168 emu/g, por lo que se infiere que la primera normalización se hizo por masa total, es decir, se incluyó la masa de las sales.

2.3 MATERIALES MAGNÉTICOS

Las propiedades magnéticas de los materiales se pueden estudiar a partir de su respuesta a un campo magnético aplicado H_a . Dicha respuesta va a depender de la respuesta neta colectiva de todos los momentos magnéticos del material, lo que conduce a la definición de inducción magnética B , como:

$$B = \mu_0(H + M) = \mu_0(H_a + H_d + M), \text{ Ec. 2.2.}$$

Siendo $\mu_0 = 4\pi \times 10^{-7} \text{ N/A}^2$ la permeabilidad del vacío, M el momento magnético por unidad de volumen (magnetización) y H_d el campo desmagnetizante generado por los momentos magnéticos presentes en el propio material (En el SI, tanto H como M se expresan en A/m y B en Tesla (T)). χ se define como:

$$\chi = \frac{M}{H}, \text{ Ec. 2.3.}$$

La Ec. 2.3, es válida en el marco de la teoría de respuesta lineal, la cual constituye una aproximación aplicable para valores suficientemente pequeños de H . El comportamiento *diamagnético* se caracteriza por un comportamiento lineal con susceptibilidades bajas y negativas que están en el rango de -1×10^{-6} y -1×10^{-3} . Esta respuesta se observa en todos los materiales, pero es la única presente en aquellos que están constituidos por átomos o moléculas sin momento magnético neto, por ejemplo, el agua [18].

El comportamiento *paramagnético*, es propio de materiales con átomos que tienen un momento magnético permanente, siendo la interacción entre momentos vecinos muy débil o despreciable. El valor de la susceptibilidad en este tipo de materiales es baja y positiva, y se encuentra en el rango entre 1×10^{-4} y 1×10^{-6} . A temperatura ambiente, la magnetización de un paramagneto es lineal con H , dentro del rango de campos normalmente realizables en el laboratorio. La mayoría de los elementos presenta este tipo de respuesta, por ejemplo, el aluminio [19].

Por otro lado, existen materiales que tienen átomos con momentos magnéticos netos fuertemente interactuantes. Estos materiales se caracterizan por presentar un ordenamiento magnético espontáneo aún sin la presencia de un campo. Dependiendo del tipo de orden magnético estos materiales se clasifican en antiferromagnéticos, ferrimagnéticos y ferromagnéticos [20]. Presentan un orden espontáneo el cual se desvanece a una temperatura crítica denominada temperatura de Curie (T_c) en los ferromagnetos y temperatura de Néel (T_N) en los antiferromagnetos y ferrimagnetos. A la temperatura crítica se produce una transición a un estado paramagnético. En nuestro caso nos centraremos en los materiales ferri y ferromagnéticos.

2.3.1 Materiales ferrimagnéticos

El ordenamiento ferrimagnético es uno donde existen al menos dos subredes con momentos magnéticos opuestos, de diferente magnitud en cada subred (Fig. 2.8). Este ordenamiento permite que haya una magnetización neta, un ejemplo de este tipo de materiales son las ferritas.



Fig. 2.8. Esquema ordenamiento ferrimagnético.

2.3.2 Materiales ferromagnéticos

Los materiales ferromagnéticos tienen un ordenamiento donde todos los espines atómicos son paralelos y apuntan en el mismo sentido. Un ejemplo de este tipo de materiales es el hierro. Esquemáticamente puede representarse como:

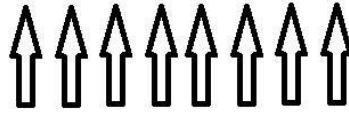


Fig. 2.9. Esquema de un ordenamiento ferromagnético.

Cuando se hacen medidas M vs H , para el caso de los ferromagnetos y ferrimagnetos, se obtiene una curva de forma sigmoide (Fig. 2.10). En ella aparecen cantidades características como la magnetización de saturación (M_s), el campo coercitivo (H_c) cuando la magnetización tiene valor nulo y la magnetización remanente (M_r) cuando el campo magnético aplicado tiene valor cero. Valores no nulos de H_c y M_r corresponden a procesos de magnetización histeréticos, es decir, fuera del equilibrio termodinámico. El área encerrada por el ciclo de histéresis M vs. H , multiplicada por μ_0 , es el trabajo magnético por unidad de volumen.

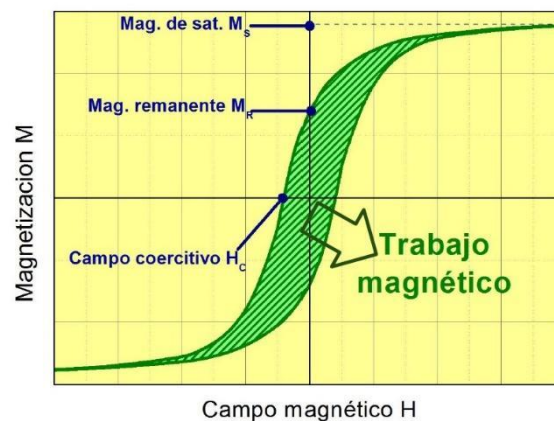


Fig. 2.10. Esquema de una curva sigmoide típica en materiales con comportamiento ferro y ferrimagnético. Tomado de Ref. 21.

2.3.3 Dominios magnéticos

El concepto de dominio se puede intuir a partir de un modelo para un material con orden magnético en un estado globalmente desmagnetizado, es decir, $B = 0$ y $H = 0$ ().

Para desarrollar este concepto, se deben entender los conceptos de pared de dominio y momento magnético neto. El momento magnético neto es la suma vectorial de todos los momentos magnéticos atómicos. Por otro lado, la pared de dominio es la interfaz entre dominios. Si la interfaz tuviera espesor nulo, habría muchos pares de momentos vecinos orientados antiparalelamente lo que aumentaría considerablemente la energía de intercambio. Por ello el sistema tiende a organizarse de manera que las transiciones entre dominios sean espacialmente extendidas, con los momentos de la interfaz

cambiando gradualmente de orientación a lo largo del espesor de la pared como se ve en la Fig. 2.12.

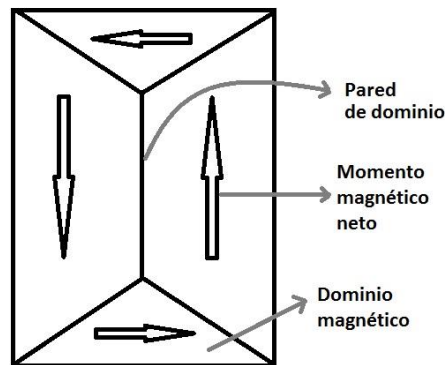


Fig. 2.11. Esquema de un material con dominios magnéticos y en estado desmagnetizado.

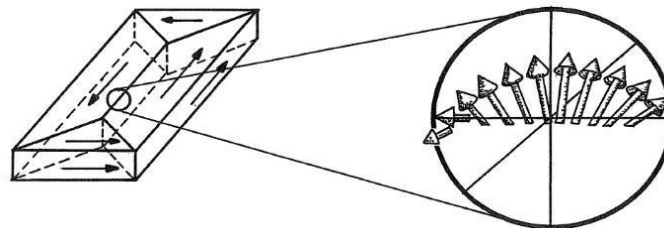


Fig. 2.12. Esquema paredes magnéticas. Tomado Ref. 15.

La organización en *dominios magnéticos* (zonas donde los momentos son paralelos entre si) minimiza la energía magnetostática [18]. Sin embargo, estos dominios magnéticos no son estáticos, es decir, pueden cambiar si se aplica un campo magnético externo H . Cuando existe este estímulo los momentos atómicos tienden a alinearse con el campo externo, modificando la magnetización total del material, eso se esquematiza en la Fig. 2.13.

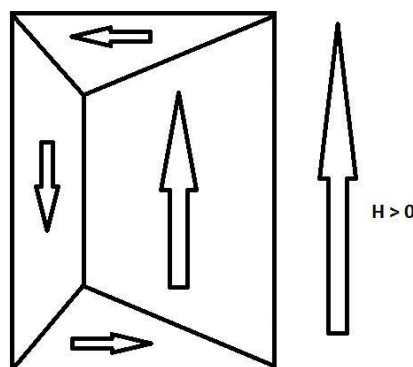


Fig. 2.13. Esquema dominios magnéticos con un campo aplicado H distinto de cero.

Por otro lado, y a pesar de que el campo externo tiende a alinear los momentos atómicos de un material, dicha alineación se ve influenciada por la estructura cristalina del mismo, ya que esta define las orientaciones preferenciales para los momentos

atómicos: existe una energía debida a la anisotropía cristalina, la cual es minimizada cuando los momentos magnéticos apuntan en direcciones cristalinas denominadas “fáciles”.

2.3.4 Nanopartículas magnéticas

Una de las grandes revoluciones de las últimas décadas ha sido la obtención controlada de materiales con tamaño nanométrico. Dicho avance científico ha sido conseguido de manera interdisciplinaria, buscando materiales estables, con tamaños acotados, y con propiedades orientadas a las distintas aplicaciones. Uno de los campos donde más se ha aprovechado el desarrollo de materiales con tamaño nanométrico es el magnetismo. Se han explorado y perfeccionado distintos procedimientos para la obtención de nanopartículas magnéticas (NPM), como las síntesis por mecanoquímica [12], coprecipitación química [22], sonoquímica [23], descomposición térmica [24] y síntesis hidrotérmica [25], entre muchas otras.

Una de las características principales de las NPM es que su comportamiento difiere notablemente del presentado por el material masivo. Estos efectos característicos de la nanoescala se empezaron a observar y estudiar a partir de la segunda mitad del siglo pasado. Particularmente, los coloides de NPM conocidos como ferrofluidos (FF) se identificaron como candidatos prometedores para aplicaciones tecnológicas en distintos campos, debido a su fuerte respuesta a campos magnéticos externos [26].

El modelo usado para describir el comportamiento magnético de este tipo de materiales se basa en el principio de Pauli, que impone condiciones a la simetría de las funciones electrónicas para el intercambio de dos electrones. Ello conduce al Hamiltoniano de intercambio (H_{int}) descrito por la siguiente ecuación.

$$H_{int} = -2 \sum_{i < j} J_{ij} \vec{S}_i \cdot \vec{S}_j. \text{ Ec. 2.4.}$$

S_i y S_j , son los espines atómicos de átomos vecinos i, j , y J_{ij} es la constante de intercambio, la cual está relacionada con el solapamiento espacial de los estados electrónicos individuales de los átomos vecinos. El signo de J favorece distintos ordenamientos magnéticos, por ejemplo, cuando es positiva favorece el ferromagnetismo, por el contrario, cuando es negativa favorece el antiferromagnetismo.

La naturaleza de este tipo de intercambio es isotrópica, es decir, no tiene una dirección preferencial. Sin embargo, en una red cristalina real la simetría es menor, ya que no todas las orientaciones de los espines son equivalentes. Hay orientaciones preferenciales en determinadas direcciones cristalinas, propias del material. Por ello es necesario agregar un término, denominado de anisotropía. En el caso más simple de anisotropía uniaxial, y reteniendo sólo el término de menor orden, el Hamiltoniano toma la forma [27]:

$$H_{int} = -2 \sum_{i < j} J_{ij} \vec{S}_i \cdot \vec{S}_j - K_{mc} \sum_i (\vec{S}_{zi})^2. \text{ Ec. 2.5.}$$

Donde, K_{mc} es la constante de anisotropía magnetocristalina, la cual determina la dirección y estabilidad de la magnetización dentro del material. Cabe resaltar que en la Ec. 2.5., se considera el eje z como la dirección cristalográfica preferencial, por lo que S_{zi} es la proyección de S_i sobre dicho eje.

Una de las consecuencias de empezar a reducir el tamaño de un material, es que la cantidad de dominios magnéticos es cada vez menor, por lo que forzosamente en algún momento se va a llegar a un solo dominio magnético, situación que corresponde a partículas monodominio (MD). El MD tiene un valor crítico para su aparición, y se puede estimar con la magnetización espontánea (M_s), la constante de anisotropía magnetocristalina (K_{mc}), la rigidez de intercambio (A), la cual es una constante proporcional a J_{ij} (y relacionada con la temperatura a la cual se pierde el ordenamiento magnético), y la permeabilidad magnética del espacio vacío (μ_0), así [28]:

$$R_{MD} = \frac{6\sqrt{AK_{mc}}}{\mu_0 M_s^2}. \text{ Ec. 2.6.}$$

Siendo $A = 1 \times 10^{-11}$ J/m [29], $M_s = 217.6$ emu/g [30] y $K_{mc} = 450$ J/m³ [31] para el hierro. Cabe resaltar que la anterior expresión se aplica para NPs esféricas.

Como se expuso anteriormente, la respuesta de las NPM a la aplicación de un campo magnético es diferente a la de un material macroscópico. En las NPM la partícula puede rotar como un todo para alinear su momento con el campo (modelo de dipolo rígido [18]) o su momento total puede rotar independientemente de la partícula (modelo de rotación coherente de los momentos iónicos, o de rotación al unísono). Este comportamiento ocurre por debajo de un radio crítico, donde no existen las paredes de dominio. El entendimiento de este comportamiento es de suprema importancia para las distintas aplicaciones.

Es importante notar que en una NPM hay otras fuentes de anisotropía ocasionadas por la forma de la partícula y la discontinuidad presente en la superficie. Ambas compiten con la anisotropía magnetocristalina y son dominantes en NPM suficientemente pequeñas. Para una NPM con un MD con forma de elipsoide de revolución en la dirección z, se tiene que la constante de anisotropía (uniaxial) de forma es:

$$K_f = \frac{1}{2} \mu_0 (N_{xx} - N_{xz}) M_s^2, \text{ Ec. 2.7.}$$

Donde N_{xx} y N_{xz} son las componentes diagonales del tensor desmagnetizante N . N vincula al campo desmagnetizante H_d dentro de la NPM con la magnetización espontánea de la misma: $\vec{H}_d = -N_{xz} \vec{M}_s$.

Uno de los modelos más usados es el de Stoner – Wohlfarth [32], el cual asume que la partícula posee anisotropía uniaxial (en su trabajo original Stoner y Wohlfarth sólo consideraron la anisotropía de forma). El modelo postula la rotación coherente de todos los momentos magnéticos y la colinealidad de los mismos, es decir que postula una rotación al unísono y una magnetización uniforme en toda la partícula. Estas aproximaciones permiten llegar a soluciones exactas para ciertas orientaciones

relativas entre el campo aplicado y el eje de fácil magnetización. Cabe mencionar que puede resultar energéticamente más costoso rotar el momento de una NP que mover una pared de dominio, por lo que este comportamiento puede conducir a coercitividades más altas que las que se presentan en materiales macroscópicos [33].

Bajo ciertas condiciones los materiales magnéticos nanométricos presentan respuestas típicas del equilibrio termodinámico, es decir que la magnetización deviene una función de estado que depende sólo del cociente $\mu H/T$. Esta respuesta se denomina superparamagnética. Este fenómeno será estudiado con más detalle a continuación [28].

2.3.5 Superparamagnetismo

El momento magnético de una partícula monodominio tiene un comportamiento superparamagnético cuando su energía cinética (del orden de $k_B T$) es mucho mayor que su energía potencial de anisotropía. En esas condiciones, en ausencia de un campo aplicado el sistema es isótropo, no hay una dirección espacial preferencial para la orientación del momento magnético de la partícula. En presencia de un campo aplicado la partícula responde como un paramagneto (interacción Zeeman), pero debido a que posee un momento varias órdenes de magnitud superior a un momento atómico, aquel recibe el nombre de supermomento y su respuesta magnética el de superparamagnetismo. Los sistemas que presentan este comportamiento tienen dos características principales [18]:

- Las curvas de magnetización para distintas temperaturas se superponen cuando M es graficada en función de $\mu H/T$.
- No hay histéresis.

Para un sistema de este tipo la energía magnética viene dada por la energía de Zeeman:

$$E_m = -\vec{\mu} \cdot \vec{B} = -\mu \mu_0 H \cos \theta, \text{ Ec. 2.8.}$$

B y μ_0 , fueron definidos anteriormente.

En la práctica, aun cuando se cumplan estas dos condiciones, frecuentemente el sistema no se comporta estrictamente como un paramagneto de supermomentos, debido a que la energía de anisotropía no resulta despreciable. Entonces, para hacer un modelo que describa la respuesta magnética de equilibrio de una partícula resulta necesario incluir un término de anisotropía en el Hamiltoniano, además de la interacción Zeeman. Consideraremos una partícula monodominio de volumen (V) con momento magnético ($\vec{\mu}$) sobre la cual se aplica un campo magnético externo (\vec{H}) en la dirección (θ) con respecto a ($\vec{\mu}$) y que forma un ángulo (ϕ) con respecto al eje de fácil magnetización o eje de anisotropía de la partícula, tal como se representa en la siguiente figura.

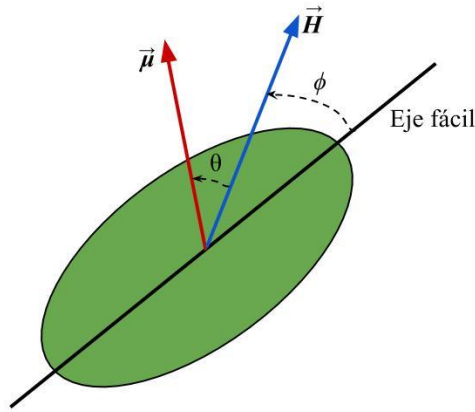


Fig. 2.17. Esquema de una partícula monodominio bajo la influencia de un campo magnético H. Tomado de Ref. 34.

Se usará la estadística de Boltzmann de partículas distinguibles, ya que se está estudiando un sistema isótropo, cuya función de partición es:

$$Z = e^{\frac{-E_m}{k_B T}}, \text{ Ec. 2.9.}$$

donde k_B es la constante de Boltzmann.

Para calcular el momento medio del sistema M_N es necesario calcular el momento medio de cada partícula $\langle \mu \rangle$ multiplicado por el número de partículas del sistema N.

$$M_N = N \langle \mu \rangle, \text{ Ec. 2.10.}$$

Usando la función Z, y considerando que el valor medio de la proyección del momento magnético $\langle \mu \rangle$ está determinado por la probabilidad de que μ forme un ángulo entre ϑ y $\vartheta + d\vartheta$ con el campo aplicado en la dirección z, se obtiene la relación:

$$\langle \mu \rangle = \frac{\int_0^\pi \mu \cos \theta e^{-E_m/k_B T} \sin \theta d\theta}{\int_0^\pi e^{-E_m/k_B T} \sin \theta d\theta}, \text{ Ec. 2.11.}$$

Resolviendo la Ec. 2.10, se obtiene:

$$M_N = N\mu \left[\coth \left(\frac{\mu \mu_0 H}{k_B T} \right) - \frac{k_B T}{\mu \mu_0 H} \right] = N\mu L(\xi), \text{ Ec. 2.12.}$$

$L(\xi)$ se conoce como la función de Langevin, siendo $\xi = \mu \mu_0 H / k_B T$.

De la Ec. 2.12. se obtienen dos condiciones, la primera, cuando $\xi \rightarrow \infty$ ($\mu \mu_0 H \gg k_B T$) $L \rightarrow 1$ (temperaturas bajas y/o campos altos) lo que implica que: $M_N = N\mu = M_s$, obteniéndose la magnetización de saturación del sistema. La segunda, para campos bajos o temperaturas altas, cuando $\xi \rightarrow 0$, y $M_N = N\mu^2 \mu_0 H / 3k_B T$. Siendo $\mu = M_s V$.

Entonces, en la región de respuesta lineal ($\xi \ll 1$) la susceptibilidad de la muestra es:

$$\chi_o = \frac{N\mu^2\mu_o}{3k_B T}, \text{ Ec. 2.13.}$$

Este resultado es comparable con el obtenido para el paramagnetismo atómico clásico, solo que en este caso los momentos iónicos que dan lugar al momento total de la NP están acoplados por la interacción de intercambio. En NPM de Fe este acoplamiento es de tipo ferromagnético [19, 35]. Una de las características de las partículas monodominio reales es que no son isotrópicas. Por esta razón, aparecen contribuciones anisotrópicas asociadas a la forma, esfuerzos, superficie e interfaces, y estructura cristalina [36].

Una NP uniaxial (Fig. 2.14) posee un único un eje de magnetización fácil. La intensidad de la energía de anisotropía (E_k) depende de la constante de anisotropía (K_{mc}). La forma más simple de la energía de anisotropía es:

$$E_k = K_{mc} V \sin^2 \theta, \text{ Ec. 2.14.}$$

Cuando $K > 0$ E_k presenta mínimos para $\theta = 0$ y $\theta = \pi$, de modo que $\theta = 0$ es la dirección del eje fácil. Si se aplica un campo magnético H en la dirección del eje fácil el Hamiltoniano es:

$$E = E_k + E_m, \text{ Ec. 2.15.}$$

Así, la función de partición (Z) se describe por la ecuación:

$$Z = e^{-(\sigma \sin^2 \theta - \xi \cos \theta)}, \text{ Ec. 2.16.}$$

Donde $\sigma = K_{mc} V / k_B T$.

En ausencia de campo se predicen dos estados de mínima energía los cuales están separados por una barrera de potencial (ΔE). Las probabilidades de que el momento de NPM se encuentre en uno de esos estados son iguales por lo que la magnetización neta de una muestra aleatoria conteniendo un número grande de MNP idénticas será igual a cero. Cuando se aplica un campo en la dirección fácil, con sentido $\theta = 0$, por ejemplo, la energía del pozo centrado en $\theta = 0$ disminuye y la del pozo centrado en $\theta = \pi$ aumenta, como consecuencia hay dos barreras de energía para la inversión del momento de NP, según éste se encuentre en uno u otro pozo. Dichas barreras están dadas por:

$$\Delta E = K_{mc} V (1 \pm h)^2, \text{ Ec. 2.17.}$$

donde $h = H/H_K$ es el denominado campo reducido, siendo $H_K = 2K/\mu_0 M_s$. Esta modificación altera la probabilidad de transición entre los estados de momento de NPM, como se verá más adelante. Los dos estados pasan a tener energías diferentes lo que a temperaturas finitas altera sus poblaciones y conduce a $\xi \neq 0$. Cuando H alcanza el valor del campo de anisotropía H_K el pozo en $\theta = \pi$ desaparece y la muestra

queda saturada en el sentido $\theta = 0$. Todo esto se puede ver esquemáticamente en la siguiente figura:

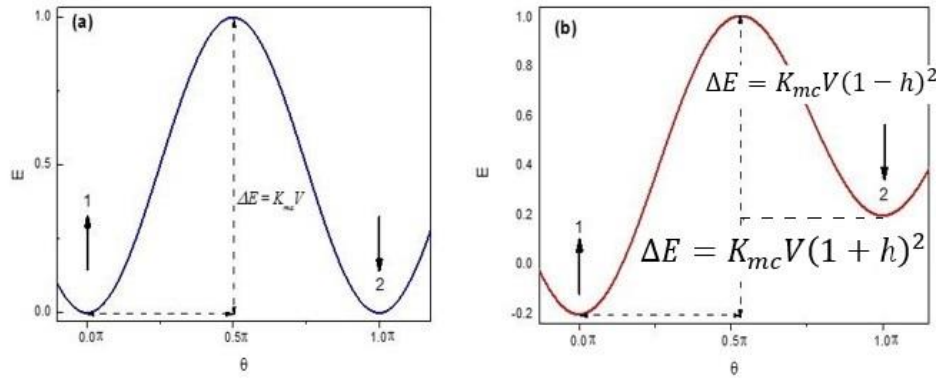


Fig. 2.15. Barrera de energía para: (a). Una partícula con energía de anisotropía $K_{mc}V$. (b). Una partícula con energía de anisotropía $K_{mc}V$ inmersa en un campo magnético H , la cual por ser la menor pasa a ser la más relevante en el proceso de magnetización. Tomado de Ref. 34.

Hay entonces una competencia entre la energía de anisotropía magnetocristalina (E_k), la energía magnética (E_m) y la energía térmica (E_T). Las dos primeras contribuyen a la energía potencial y determinan la barrera ΔE , como se expresó en la Ec. 2.17. La tercera, $E_T = k_B T$, es proporcional a la energía cinética de los momentos y es responsable de su fluctuación. El tiempo medio (τ) que una NP permanece en uno de los estados está dado de manera general por la Ec. 2.18. Se debe tener en cuenta que si $H \neq 0$ el tiempo τ es diferente para cada transición:

$$\tau_{ij} = \tau_0 e^{\Delta E_{ij}/k_B T}, \quad i, j = 1, 2. \quad \text{Ec. 2.18.}$$

Donde i, j representan los estados con $\theta = 0$ (1) y $\theta = \pi$ (2). τ_0 es un factor denominado a veces “tiempo de intentos”, el cual es del orden de los nanosegundos (10^{-10} s). Por otro lado, cuando $T \rightarrow 0$ (e ignorando el efecto túnel, que sólo es importante en partículas muy pequeñas), la inversión del momento de una partícula MD sólo puede ocurrir cuando se elimina la barrera de potencial. Ello ocurre cuando $H = H_K$ ($h=1$).

Una expresión para la dependencia del campo coercitivo con la temperatura puede obtenerse del siguiente modo. Supongamos que hemos saturado un conjunto de NPs idénticas en el estado 2 ($\theta = \pi$) para lo cual hemos debido aplicar $h \leq -1$. Si ahora se incrementa el campo gradualmente, desde $h = -1$ hasta alcanzar valores positivos, la barrera de energía ΔE_{21} para pasar del estado 2 al 1 disminuirá y consecuentemente τ_{21} disminuirá también. Mientras $\tau_{21} \gg \tau_{exp}$, el sistema permanecerá aproximadamente saturado en el estado 2, pero cuando sea del orden de τ_{exp} la probabilidad de transición $2 \rightarrow 1$ se incrementará notablemente y el sistema se aproximará rápidamente al equilibrio. Dada la dependencia exponencial de τ con ΔE , esa situación ocurrirá dentro de un rango estrecho de valores de h en torno de $h = h_c$. Siguiendo este razonamiento podemos obtener $h_c(T)$ usando las Ecs. 2.17 (signo menos, para $h = h_c$) y 2.18 (para $\tau_{21} = \tau_{exp}$).

$$K_{mc}V(1 - h^2) = k_B T \ln\left(\frac{\tau}{\tau_0}\right), \quad \text{Ec. 2.19.}$$

Si se despeja h_c , siendo $h=H_c/H_K$ se obtiene:

$$H_c = H_K \left(1 - \frac{k_B T}{K_{mc} V} \ln \left(\frac{\tau}{\tau_0} \right) \right)^{1/2}, \text{ Ec. 2.20.}$$

$H_c = 0$ para la temperatura conocida como de bloqueo (T_B). Por encima de la misma el momento de NPM tiene un comportamiento reversible (de equilibrio) y por debajo irreversible (bloqueado). Para el primer caso, no se observa coercitividad y las nanopartículas se comportan como superparamagnéticas, y para el segundo, se observa coercitividad y se pierde el comportamiento superparamagnético.

Haciendo la salvedad de que dicha temperatura va a depender del tiempo característico de cada técnica, y usando la expresión que define T_B que se deduce a partir de Ec. 2.20, y para $\tau = \tau_m$, se obtiene:

$$\tau_B = \frac{K_B}{K_{mc} V} \ln \left(\frac{\tau_m}{\tau_0} \right), \text{ Ec. 2.21.}$$

Usando la Ec. 2.21 se puede reescribir la expresión que describe el campo coercitivo como función de T [37], así:

$$H_c = H_K \left(1 - \left(\frac{T}{T_B} \right)^{1/2} \right), \text{ Ec. 2.22.}$$

Para el caso en el que H forma un ángulo ϕ con el eje fácil de magnetización, el Hamiltoniano (Ec. 2.15) depende también de éste:

$$E = 2K_{mc} V \left(\frac{1}{2} \sin^2(\phi - \theta) - h \cos(\theta) \right), \text{ Ec. 2.23.}$$

Para este caso, se evidencia que el campo coercitivo va a depender de dicho ángulo ϕ . El cual se analizará en cuatro casos particulares [36]:

- Cuando $\phi = 0$, se obtiene el resultado ya presentado en la Ec. 2.22.
- Cuando $0 < \phi < \pi/4$ y $T \rightarrow 0$, se obtiene:

$$H_c = H_K \left(\frac{(1-w^2+w^4)^{1/2}}{1+w^2} \right), \text{ Ec. 2.24.}$$

Donde $w = (\tan \phi)^{1/3}$.

- Cuando $\pi/4 < \phi < \pi/2$ y $T \rightarrow 0$, se obtiene:

$$H_c = H_K \frac{\sin(2\phi - \pi)}{2}, \text{ Ec. 2.25.}$$

- Cuando los ejes de anisotropía se encuentran aleatoriamente orientados se tiene que:

$$H_c = 0.48 H_K \left(1 - \left(\frac{T}{T_B} \right)^{2/3} \right), \text{ Ec. 2.26.}$$

2.3.6 Interacción dipolar magnética

El entendimiento de la interacción dipolar magnética es de vital importancia. A las partículas monodominio se les suele asignar un momento dipolar magnético neto. Bajo este esquema una NPM es un dipolo, por lo que en las cercanías de otra NPM se espera una interacción entre ambos dipolos.

El modelo considera dos partículas cuyas posiciones están definidas por los vectores \vec{r}_k y \vec{r}_j , con momentos dipolares magnéticos $\vec{\mu}_k$ y $\vec{\mu}_j$, respectivamente (ver Fig. 2.16).

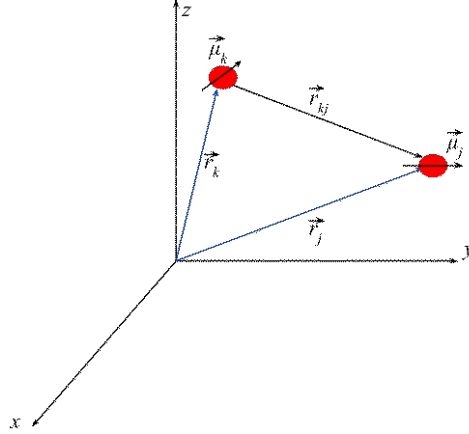


Fig. 2.16. Distribución espacial de dos NPM con momentos magnéticos $\vec{\mu}_k$ y $\vec{\mu}_j$ separadas una distancia \vec{r}_{kj} . Tomado de Ref. 34.

Del esquema se deduce que la energía de la interacción está dada por:

$$E_{dip} = -\vec{\mu}_k \cdot \vec{B}_k, \text{ Ec. 2.27.}$$

Donde B_k es el campo generado por el dipolo j en la posición r_k

$$E_{dip} = \frac{\mu_0}{4\pi} \left(\frac{\vec{\mu}_k \cdot \vec{\mu}_j}{|\vec{r}_{kj}|^3} - 3 \frac{(\vec{\mu}_k \cdot \vec{r}_{kj})(\vec{\mu}_j \cdot \vec{r}_{kj})}{|\vec{r}_{kj}|^5} \right), \text{ Ec. 2.28.}$$

Usando el álgebra vectorial y definiendo el ángulo γ el ángulo que se forma entre los vectores $\vec{\mu}_k$ y $\vec{\mu}_j$, α el ángulo formado por los vectores $\vec{\mu}_k$ y \vec{r}_{kj} y β el ángulo formado por los vectores $\vec{\mu}_j$ y \vec{r}_{kj} . De esta forma si $|\vec{\mu}_k| = |\vec{\mu}_j| = \mu$

$$E_{dip} = \frac{\mu_0}{4\pi} \left(\frac{\mu^2 \cos \gamma}{|\vec{r}_{kj}|^3} - 3 \frac{\mu^2 \cos \alpha \cos \beta}{|\vec{r}_{kj}|^3} \right), \text{ Ec. 2.29.}$$

La configuración de menor energía se cumple cuando la función coseno vale 1 (configuración “cabeza-cola”), por tanto, $\gamma = \alpha = \beta = 0$. Dicha condición conduce a:

$$E_{dip} = -\frac{\mu_0 \mu^2}{2\pi |\vec{r}_{kj}|^3} = -\frac{\mu_0 M_s^2 V^2}{2\pi |\vec{r}_{kj}|^3}, \text{ Ec. 2.30.}$$

Cabe resaltar que la anterior expresión es válida para la interacción de dos NPs. Como la interacción dipolar es de largo alcance, para un sistema coloidal, por ejemplo, la interacción efectiva va a depender de las posiciones y orientaciones relativas de los momentos magnéticos de todas las partículas.

Para entender la interacción dipolar entre varias partículas, se puede abordar un modelo de campo medio como el modelo de Allia et. al. [37] y el desarrollado en nuestro grupo por Sánchez et. al. [38], donde se considere la contribución de todas las partículas del sistema a dicha interacción. En sistemas concentrados la interacción dipolar modifica notablemente la respuesta de las NPM lo cual tiene consecuencias sobre sus aplicaciones. A continuación, introduciremos la *velocidad específica de absorción* (SAR, por sus siglas en inglés, Specific Absorption Rate), una de las principales figuras de mérito asociadas con la hipertermia magnética.

2.3.7 Velocidad específica de absorción (SAR)

En esta etapa se debe introducir el concepto de SAR, el cual se relaciona con la capacidad de generar calor mediante la aplicación de un campo externo alterno sobre NPMs (en lo que sigue se considerarán NPMs formando un coloide). Dicho calor se genera por los procesos disipativos asociados a la rotación del dipolo magnético dentro de la NPM y por la rotación de la partícula en el medio líquido. En los coloides, las NPM están suspendidas en un medio líquido de viscosidad η , esencialmente agua para este caso en particular.

Si se considera una nanopartícula de volumen V y magnetización espontánea M_s bajo la influencia de un campo magnético dependiente del tiempo de la forma:

$$H(t) = H_o e^{i\omega t}, \text{ Ec. 2.31.}$$

con $\omega = 2\pi f$, siendo f la frecuencia de oscilación del campo magnético. Para campos magnéticos pequeños, la magnetización es proporcional a H :

$$\vec{M}(t) = \chi \vec{H}(t), \text{ Ec. 2.32.}$$

Donde χ es la susceptibilidad magnética, la cual puede expresarse como:

$$\chi = \chi' - i\chi'', \text{ Ec. 2.33.}$$

La componente real de la susceptibilidad, χ' , es la respuesta en fase, y la imaginaria, χ'' , es la respuesta fuera de fase. De forma que:

$$M(t) = \text{Re}[\chi H_o e^{i\omega t}] = H_o(\chi' \cos \omega t + \chi'' \sin \omega t), \text{ Ec. 2.34.}$$

Debido a que χ'' está retrasada con respecto al campo magnético aplicado, esta componente determina la capacidad de absorber energía por parte de la NP, por lo que es la única que contribuye al aumento de la energía interna ΔU de la partícula.

Usando la primera ley de la termodinámica $dU = dQ + dW$, donde Q es el calor absorbido y W es el trabajo realizado por el sistema, y consideramos, además, un proceso adiabático ($dQ = 0$). El trabajo realizado para magnetizar la nanopartícula es $dW = \vec{H} \cdot d\vec{B}$ donde \vec{B} es la inducción magnética que adquiere la NPM en presencia de un campo \vec{H} .

De esta forma $dU = \vec{H} \cdot d\vec{B}$, con $\vec{B} = \mu_0(\vec{H} + \vec{M})$. En un ciclo cerrado el término $\vec{H} \cdot d\vec{H}$ es nulo y no contribuye a la variación de la energía interna, por lo tanto, la variación de energía interna en un ciclo de oscilación del campo aplicado es:

$$\Delta U = -\mu_0 \oint \vec{M} \cdot d\vec{H} = 2\mu_0 H_o^2 \chi'' \int_0^{2\pi/\omega} \sin^2(\omega t) dt, \text{ Ec. 2.35.}$$

La velocidad específica de absorción es la variación de energía interna por unidad de tiempo, es decir $SAR = f\Delta U$, o:

$$SAR = \mu_0 \pi \chi'' f H_o^2, \text{ Ec. 2.36.}$$

En relación a las interacciones dipolares es importante notar que la SAR es proporcional a la componente imaginaria de la susceptibilidad (disipativa), y que χ'' contiene como factor a la susceptibilidad de equilibrio χ_o , (ver Ec. 2.39) la cual resulta fuertemente afectada por dichas interacciones, tal como fue demostrado recientemente [38].

2.3.7.1 Relajación magnética de partículas coloidales.

Cuando se le aplica un campo magnético a un sistema de NPM, este se magnetiza. Dicha magnetización es descrita por la ecuación de Shliomis [26]:

$$(M - M_o) \sim e^{-t/\tau}$$

Así,

$$\frac{\partial M(t)}{\partial t} = \frac{1}{\tau} (M_o(t) - M(t)), \text{ Ec. 2.37.}$$

Donde τ es el tiempo de relajación, M_o es la magnetización de equilibrio, $M_o(t) = \chi_o H_o \cos \omega t$, $M(t)$ es la magnetización instantánea, y χ_o es la susceptibilidad de equilibrio. Si se resuelve la Ec. 2.44., se obtiene:

$$\chi' = \frac{\chi_o}{1 + (\omega\tau)^2}, \text{ Ec. 2.38.}$$

$$\chi'' = \frac{\chi_o \omega \tau}{1 + (\omega\tau)^2}, \text{ Ec. 2.39.}$$

Donde $\chi_o = N\mu_o \mu^2 / 3k_B T$ es la susceptibilidad de equilibrio (N es el número de NPs por unidad de volumen). El comportamiento de χ' y χ'' en relación a la frecuencia del campo magnético aplicado se presenta en la siguiente figura:

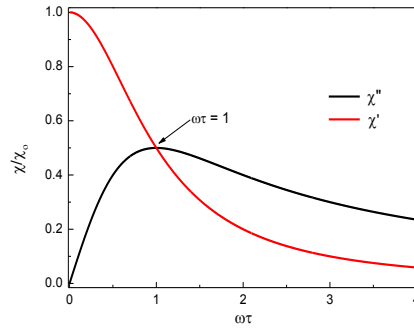


Fig. 2.17. Comportamiento de las componentes en fase χ' y fuera de fase χ'' de la susceptibilidad en función de $\omega\tau$. Tomado de Ref. 34.

χ'' es el producto de dos factores, χ_0 y el factor de frecuencia $\frac{\omega\tau}{1+\omega^2}$. Desde el punto de vista de la SAR es conveniente incrementar ambos. En χ_0 la cantidad clave es $\mu^2 \sim V^2 M_s^2$. Para incrementar esta cantidad es conveniente disponer de NPs de gran volumen (mientras continúen siendo monodominio) y de alta magnetización espontánea. El factor de frecuencia tiene un máximo, para la condición de resonancia $\omega\tau = 1$ (en este punto, a su vez, se ubica el punto de inflexión de χ'). Es necesario notar que en la SAR aparece el factor $f = \omega/2\pi$, de modo que tiene un factor de frecuencia diferente, proporcional a $\omega^2\tau/(1+\omega^2\tau^2)$. Este factor tiene un máximo pronunciado en función de τ , para $\tau=1/\omega$, de modo que si se dispone de una fuente de RF con frecuencia ω fija, optimizarlo implica determinar optimizar el producto KV (Ec. 2.18). Por otro lado, es una función monótonamente creciente de ω , por lo que en principio sería conveniente trabajar a la frecuencia más alta posible. En la práctica no se pierde mucho acotando el rango de frecuencias, ya que este factor alcanza el 80% de su valor asintótico para $\omega \approx 2/\tau$.

En el SI el SAR tiene unidades W/m^3 , aunque si se divide por la densidad de la NP se puede obtener la potencia absorbida por unidad de masa de NP, estas unidades (W/g) son las adoptadas en la literatura y serán usadas en toda la tesis. En conclusión, dentro del régimen de respuesta lineal la SAR se puede expresar mediante la ecuación:

$$SAR = \frac{\mu_0^2 M_s^2 V H_0^2}{6 k_B T \rho_{NP}} \frac{\omega^2 \tau}{1+(\omega\tau)^2}, \text{ Ec. 2.40.}$$

Como se dijo anteriormente, la potencia disipada tiene una dependencia con el tiempo de relajación. Para el caso de NPM en un sistema coloidal existen dos tipos [40-41]. El primero, se refiere al mecanismo de relajación Browniano. Corresponde a las rotaciones aleatorias de la NP a causa de las colisiones (no centrales) con las moléculas del líquido. El tiempo de relajación de Brown es el tiempo medio entre colisiones. Este mecanismo es el único posible en el modelo de dipolo rígido. El segundo mecanismo, es conocido como el mecanismo de relajación de Néel, en donde el que rota es el momento magnético respecto de un marco de referencia fijo en la NP. Los tiempos característicos asociados a cada uno de los mecanismos de relajación (τ_B y τ_N , respectivamente), se pueden calcular de la siguiente manera:

$$\tau_B = \frac{3\eta V_H}{k_B T}, \text{ Ec. 2.41.}$$

Donde η es la viscosidad del coloide y V_H es el volumen hidrodinámico de la NP. Este incluye el tamaño de la NP (radio r) y el recubrimiento que le da estabilidad electrostática de espesor δ . Con estos elementos se puede calcular el volumen hidrodinámico (V_H) como:

$$V_H = V \left(1 + \frac{\delta}{r}\right)^3, \text{ Ec. 2.42.}$$

La expresión 2.42 no tiene en cuenta las moléculas de solvente que se adhieren a la superficie de la capa estabilizante e incrementan el V_H . Se debe aclarar que este valor teórico difiere del experimental debido a que en este caso no se considera la fricción que existe entre la partícula y el medio circundante [42].

Para el caso del tiempo característico de Néel:

$$\tau_N = \tau_0 e^{\Delta E/k_B T}, \text{ Ec. 2.43.}$$

Donde ΔE viene dado por la Ec. 2.17. Para el caso en el que no existe campo magnético aplicado, si se trabaja dentro del marco de respuesta lineal, se obtiene:

$$\tau_N = \tau_0 e^{KV/k_B T}, \text{ Ec. 2.44.}$$

Por otro lado, asumiendo la independencia de los mecanismos de relajación, el tiempo efectivo de relajación viene dado por:

$$\tau = \left(\frac{1}{\tau_N} + \frac{1}{\tau_B}\right)^{-1}, \text{ Ec. 2.45.}$$

Si se grafican los tiempos de relajación en función del tamaño de una NP, se obtiene la Fig. 2.21.

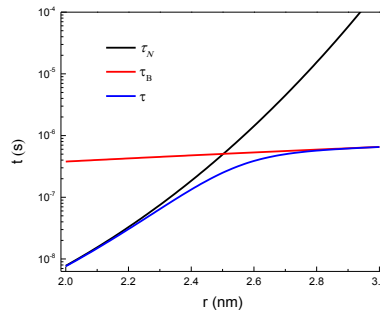


Fig. 2.18. Gráfica del tiempo de relajación en función el tamaño de una NP para temperatura ambiente (300 K). Para esta simulación, se considera una NPM tal que $K_{eff} = 53.81 \text{ kJ/m}^3$, recubiertas con una capa de $\delta = 3 \text{ nm}$ inmersas en un líquido de viscosidad $\eta = 10^{-3} \text{ Pa.s}$. Además, $\tau_0 = 10^{-10} \text{ s}$. Tomado de Ref. 34.

De la anterior gráfica se puede concluir que existe un tamaño crítico donde el τ_N y τ_B tienen igual peso en la disipación de la partícula. Si la NP es menor que el tamaño crítico la relajación predominante es la de Néel, y, si es mayor, la relajación predominante es por el mecanismo de Brown.

Por último, si se considera un sistema coloidal que tiene una distribución de tamaños de NPs $g(r)dr$, que representa la fracción de volumen ocupado por NPs con radios entre r y $r + dr$, se obtiene que la potencia disipada tiene la forma:

$$SAR = \frac{\mu_0^2 M_s^2 H_0^2}{6k_B T \rho_{NP}} \int_0^\infty V(r) \frac{\omega^2 \tau(r)}{(1 + (\omega \tau(r))^2)} g(r) dr, \text{ Ec. 2.46.}$$

A partir de la expresión anterior se puede inferir que hay una frecuencia para la cual el sistema entra en resonancia ($\omega = 1/\tau$), lo que implica que $\omega \tau(r) = 1$, que es cuando el valor de SAR tiene su valor máximo, dicha condición es la que se busca en las aplicaciones de hipertermia magnética.

2.3.8 Modelos de campo medio para el tiempo de relajación de Néel

Existen varios modelos que intentan explicar la influencia de las interacciones dipolares al tiempo de relajación de las NPs. Las interacciones producen un campo dipolar local en el sitio de cada NP. En sistemas muy concentrados las interacciones pueden dar lugar a un efecto colectivo del tipo de los observados en vidrios de espín, caracterizado por una temperatura característica de congelamiento (freezing) T_0 , por debajo de la cual los momentos de NP en todo el sistema no responden individualmente a una excitación magnética. Estaríamos en presencia de una transición de fase a un estado congelado, que aparece en la literatura referido como “cluster glass” [43]. En sistemas más diluidos el campo dipolar afecta la barrera de energía de cada partícula modificando los tiempos de relajación y las temperaturas de bloqueo de manera individual. Los modelos más usados en el análisis de la disipación calorífica por la aplicación de un campo magnético externo, en el cual se enmarca esta tesis, se describen a continuación.

2.3.8.1 Modelo de campo medio de Landi [44]

Este modelo analiza la influencia de las interacciones dipolares en función de la concentración de NPM en una suspensión coloidal y se basa en los cálculos numéricos de la evolución temporal de la ecuación de Fokker – Plank incluyendo las interacciones dipolares. El modelo considera N partículas con un momento orientado μ , cuyo análisis se empieza al incrementar la concentración desde un estado completamente diluido mientras se observan los cambios en los tiempos de relajación los cuales están íntimamente relacionados con ΔE como se vio en la sección 2.3.6., y finalmente, se llega a un estado con una magnetización distinta de cero, incluso con $H = 0$. Este modelo propone que la barrera de potencial viene dada por:

$$\Delta E_{eff} = \frac{1}{\beta} (\sigma + \gamma \sigma^2 p_2), \text{ Ec. 2.47.}$$

Siendo $\sigma = KV/k_B T$ y $\gamma = 1/k_B T$, $p_2 \approx 0.9$, y:

$$\gamma = \frac{N}{10} \left(\frac{\langle \mu^2 \rangle \mu_0}{4\pi K_{mc} V_{NP}} \right)^2 \left\langle \frac{1}{d^6} \right\rangle, \text{ Ec. 2.48.}$$

Con d la distancia a primeros vecinos entre NPs.

De este resultado se desprende una dependencia fuerte entre la ΔE_{eff} y la distancia (d). Como dicha distancia está directamente relacionada con la concentración del coloide, se infiere que al variar la concentración se van a presentar cambios importantes en la barrera de energía, esto se esquematiza en la siguiente figura:

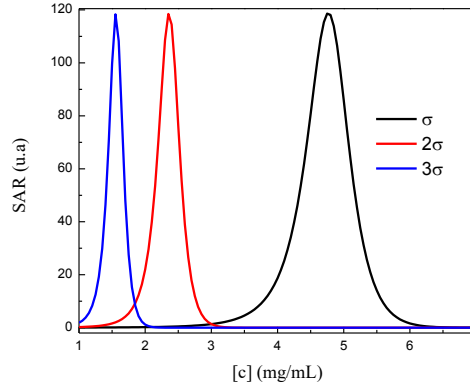


Fig. 2.22. Variación del SAR en función de la concentración de suspensiones coloidales para $\sigma=1, 2$ y 3 . Tomado de Ref. 34.

La ecuación de Vogel – Fulcher para el tiempo de relajación da cuenta de las interacciones dipolares a través de un parámetro T_0 :

$$\tau \sim e^{\frac{K_{mc}V_{NP}}{k_B(T-T_0)}},$$

τ tiende a infinito cuando T tiende a T_0 dando lugar a un bloqueo colectivo de las NPs por causa de las interacciones dipolares. Haciendo un desarrollo de la exponencial en torno a T_0 se obtiene:

$$\frac{K_{mc}V_{NP}}{k_B(T-T_0)} = \frac{K_{mc}V_{NP}}{k_BT} + \frac{K_{mc}V_{NP}}{k_BT^2}T_0, \text{ Ec. 2.49.}$$

Si se compara la anterior ecuación con Ec. 2.48, se encuentra que tienen similitudes de las cuales se puede determinar el valor de T_0 así:

$$T_0 = \frac{N}{10k_BK_{mc}V_{NP}} \left(\frac{\langle \mu^2 \rangle \mu_0}{4\pi} \right)^2 \left\langle \frac{1}{d^6} \right\rangle, \text{ Ec. 2.50.}$$

De esta manera, se puede estimar la intensidad de las interacciones dipolares ($E_{\text{Dip}} = k_BT_0$) en función de parámetros que se pueden determinar mediante medidas magnéticas y estructurales.

2.3.8.2 Modelo de campo medio de Dormann-Bessais-Fiorani (DBF) [45]

Este modelo también aborda la influencia que tienen las interacciones dipolares en el tiempo de relajación de partículas magnéticas. $\chi''(\omega\tau, T)$ tiene un máximo en $\omega\tau = 1$, que corresponde a la condición $T = T_B$. Para una medida de χ'' vs T la posición del

máximo muestra una dependencia con la frecuencia del campo (Fig. 2.20a), se corre hacia la derecha a medida que aumenta la misma.

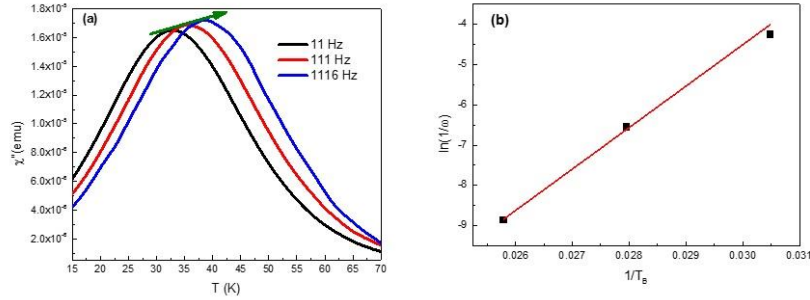


Fig. 2.20. Comportamiento de χ'' en función de la temperatura y a diferentes frecuencias del campo AC. (b). Linealidad entre la inversa de la temperatura de bloqueo y el logaritmo del tiempo de relajación. Tomado de Ref. 34.

Tomando la Ec. 2.44. Y reemplazando τ por $1/\omega$, se obtiene:

$$\ln(1/\omega) = \frac{\Delta E}{k_B T_B} + \ln(\tau_0), \text{ Ec. 2.51.}$$

Al graficar $\ln(1/\omega)$ en función de $1/T_B$ se obtiene una dependencia lineal como se ve en la Fig. 2.20b., y cuya pendiente e intercepto, vienen dados por $\Delta E/k_B$ y $\ln(\tau_0)$. Al analizar un poco la anterior ecuación se nota que el término que determina el comportamiento del sistema es ΔE , dicho término está relacionado con las características del sistema de estudio como son:

- La energía magnetocristalina (E_{mc}), que da cuenta de la estructura cristalina de la NPM.
- La energía magnetostática (E_{me}), que hace referencia al factor desmagnetizante (forma de la NP).
- Las interacciones dipolares, las cuales entran en juego cuando las distancias entre las partículas son pequeñas, lo que puede conducir a aglomerados los cuales no son deseables.

Este modelo considera que a la barrera de energía $\Delta E = K_{eff}V$ se le debe agregar el término de la Ec. 2.52., obteniéndose la Ec. 2.53. Debido a que se considera un arreglo regular de NPs iguales con una misma ΔE y con rotación de momentos tipo Néel.

$$\Delta E_{int} = \mu_o M_s^2 V \sum_j b_j L \left(\mu_o M_s^2 V \frac{a_j}{k_B T} \right), \text{ Ec. 2.52.}$$

Donde L es la función de Langevin cuyo argumento es la interacción de Zeeman de μ_i con el campo dipolar de μ_j dividido por $k_B T$, $a_j = V \frac{3 \cos^2 \alpha_j - 1}{d_j^3}$, siendo α_j el ángulo entre μ_j y el vector r_{ij} que corresponde al vector posición de la partícula i respecto de la partícula j , d_j es la distancia entre partículas y b_j da cuenta del efecto de la interacción dipolar sobre la j -ésima partícula. Para un sistema monodisperso en la condición de menor energía $b_j = a_j$. Todo esto conduce a que:

$$\Delta E_{tot} = K_{eff} V_{NP} + \Delta E_{int}, \text{ Ec. 2.53.}$$

Donde K_{eff} es la constante que tiene en cuenta la anisotropía magnetocristalina, de superficie, volumétrica y magnetostática. Si se consideran únicamente las contribuciones de los primeros vecinos y se aproxima la función de Langevin como $L(x) \approx 1 - 1/x$ para $x \geq 2$, es decir, cuando la energía dipolar es el doble de la térmica, se obtiene:

$$\Delta E_{int} = \mu_o M_s^2 V_{NP} n_1 \left(b_1 - \frac{k_B T b_1}{\mu_o M_s^2 V_{NP} a_1} \right)$$

Reescribiendo la Ec. 2.51.,

$$\ln(1/\omega) = \ln(\tau_o) - n_1 \frac{b_1}{a_1} + \frac{V}{k_B T_B} (K_e + \mu_o M_s^2 b_1 n_1), \text{ Ec. 2.54.}$$

Donde se tiene una constante de anisotropía efectiva que tiene en cuenta las interacciones dipolares y es mayor que la constante de anisotropía uniaxial:

$$K_{eff} = K_e + \mu_o M_s^2 b_1 n_1, \text{ Ec. 2.55.}$$

En conclusión, a partir del modelo de DBS se puede inferir que las interacciones dipolares aumentan ΔE , debido al aumento de la constante de anisotropía, y a la vez, disminuye el valor de τ_o , por lo que se debe considerar un τ_o^{eff} tal que:

$$\tau_o^{eff} = \tau_o e^{-n_1 b_1 / a_1}, \text{ Ec. 2.56.}$$

Este resultado se puede ser comparado con el modelo de Vogel-Fulcher, el cual expresa el tiempo de relajación de la forma:

$$\ln(1/\omega) = \ln(\tau_o) + \frac{0.97 K_{eff} V}{k_B (T_B - T_o)}, \text{ Ec. 2.57.}$$

En este caso T_o es la medida indirecta de las interacciones dipolares entre las partículas. Este parámetro puede ser calculado usando la Ec. 2.58., quedando de la forma:

$$T_o = \frac{(\mu_o M_s^2 a_1)^2}{K_{eff}} (1 + \varepsilon) \frac{V b_1 n_1}{2.9 a_1 k_B}, \text{ Ec. 2.58.}$$

Siendo ε , el efecto de los vecinos no tan cercanos.

Cabe resaltar que la aplicación de este modelo a sistemas experimentales depende fuertemente de la distribución de tamaños y la magnetización del mismo. Además, se puede concluir que ΔE es mayor para un conjunto de partículas en relación a la barrera de energía de una partícula aislada al igual que el modelo de Landi que fue descrito anteriormente.

2.3.8.3 Modelo de campo medio de superparamagnetos interactuantes

Este modelo desarrollado por F. H. Sánchez et. al. [38], permite estudiar los aspectos más relevantes de sistemas interactuantes en el régimen superparamagnético. Dicho modelo se construye a partir de los conceptos interacciones dipolares y el campo desmagnetizante. En él se hacen algunas aproximaciones lo que permite encontrar una expresión sencilla para los campos desmagnetizantes efectivos, que a su vez, permite analizar las distribuciones espaciales de partículas uniformes y no uniformes, y en particular, cuando se presentan aglomerados. La expresión final encontrada es función de los campos desmagnetizantes asociados a la forma de las NPs y a la forma de sus aglomerados, teniendo en cuenta las distancias medias entre NPs vecinas y entre aglomerados, relativas a los tamaños medios de cada uno de ellos. Además, el modelo permite explicar los efectos de las interacciones dipolares magnéticas, tales como la observación de momentos magnéticos aparentes más pequeños que los reales en las NPs cuando la temperatura tiende a cero. También permite, después de hacer mediciones experimentales, determinar algunas propiedades intrínsecas de las NPs como su volumen medio, momento magnético y susceptibilidad en ausencia de interacciones. A su vez se puede estimar la distancia media relativa entre NPs y entre aglomerados, así como los valores medios de los campos desmagnetizantes asociados a la forma de dichos aglomerados. Por último, se obtiene una expresión de la energía dipolar magnética media por nanopartícula, la cual es función del campo desmagnetizante efectivo y la magnetización. Este modelo no trata la influencia de las interacciones sobre el tiempo de relajación del momento de NP, de modo que este efecto, importante para la evaluación del factor de frecuencia de la SAR (Ec. 2.59), debe analizarse con los modelos de Landi, DFB, VF, FvR, etc. Pero puede ser importante al considerar los efectos de las interacciones sobre la componente compleja de la susceptibilidad, que aparece en el primer factor de la expresión teórica de la SAR (Ec. 2.60).

$$\vec{\lambda} = -24 \frac{\varphi}{n_{pc}-1} n_{cu} \frac{\vec{M}}{M_s}, \text{ Ec. 2.59.}$$

Con φ el factor de empaquetamiento del volumen de las NPs respecto del volumen del cluster, n_{pc} es el número de NPs por cluster, n_{cu} es el número de clusters, \vec{M} es la magnetización y M_s es la magnetización de saturación de las NPs.

$$\varepsilon_u = \mu_0 N_u^E M_u^2 \langle V \rangle, \text{ Ec. 2.60.}$$

Siendo N_u^E el factor desmagnetizante efectivo, M_u es la magnetización del arreglo considerando partículas no interactuantes y $\langle V \rangle$ es el volumen medio de las NPs.

2.4 Nanopartículas magnéticas aplicadas en medicina

Entre las múltiples aplicaciones que tienen las NPM destaca la que se refiere al campo de la medicina. Este adelanto se debe principalmente al desarrollo de síntesis y procedimientos que permiten obtener partículas con tamaños controlados, así como, estabilizaciones electrostáticas con carga positiva o negativa según se requiera. En

nuestro grupo se tiene experiencia en la investigación de materiales con potenciales aplicaciones en hipertermia magnética, estabilizados principalmente con ácido cítrico [46-47] el cual tiene carga negativa, pero también existen muchos grupos cuya investigación requiere una estabilización con carga positiva [48], como en el caso de NPs para transporte de ADN.

Como se explicó en las secciones anteriores, cuando una NPM está inmersa en un campo magnético alterno puede transferir energía en forma de calor debido a la relajación del dipolo magnético y/o la partícula (relajación de Néel y Brown, respectivamente). Este calentamiento con fines terapéuticos, conocido como hipertermia magnética, es una de las motivaciones de esta tesis, cuyos fundamentos se presentan a continuación.

2.4.1 Hipertermia magnética

Existe un creciente interés en la publicación de artículos con esta temática como se ve en la Fig. 2.21., debido a sus aplicaciones en medicina y al mejor desarrollo de materiales nanométricos en aspectos tan importantes como tamaño controlado, magnetización de saturación, biocompatibilidad, entre otros.

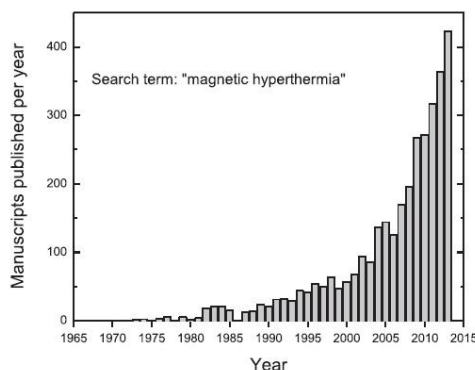


Fig. 2.21. Número de trabajos científicos en hipertermia magnética. Tomado de Ref. 49.

Esta terapia (HM), consiste en la destrucción selectiva de tejido tumoral mediante el aumento de la temperatura de manera localizada [49], la cual pretende que se aumente la temperatura hasta aproximadamente 42.7°C. A mayores temperaturas se provoca muerte celular por termoablación [50]. Estudios más detallados de este fenómeno fueron realizados por Johannsen et. al. [51] e Hildebrandt et. al. [52]. Johannsen et. al., por ejemplo, hacen un estudio sobre el tiempo de tratamiento de hipertermia en función de la temperatura en pacientes con cáncer de próstata usando nanopartículas de magnetita con un tamaño medio de 15 nm. En dicho estudio se encontró la temperatura crítica donde se pasa de una muerte programada (por apoptosis) de tejido por hipertermia a una donde dicha muerte es por termoablación, esto se muestra en la Fig. 2.21.

La hipertermia magnética tiene la ventaja de hacer un calentamiento localizado que se produce por el efecto de un campo magnético alterno de alta frecuencia sobre las

NPM. Dicho procedimiento ha sido probado en múltiples estudios físicos, biológicos y clínicos [51-55], los cuales se han hecho principalmente con óxidos de hierro y sobre tejidos de próstata y gliomas.

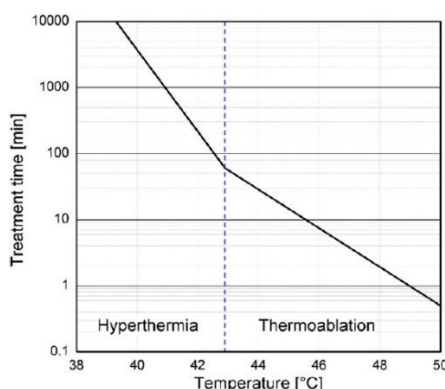


Fig. 2.22. Estudio del efecto del tiempo de tratamiento en función de la temperatura en células de cáncer de próstata. Tomado de Ref. 50.

El estudio del parámetro t es necesario debido a que se requiere analizar la reacción del sistema biológico, en este caso células tumorales de próstata, al aumento de temperatura con el fin de definir la “dosis térmica” necesaria para favorecer la muerte celular por apoptosis o por termoablación [50].

Cabe destacar que a pesar de los resultados prometedores que ha tenido esta terapia, aún deben resolverse varios problemas para que su implementación sea de uso estándar en terapias oncológicas. El primer problema se refiere a desarrollar métodos confiables y seguros para hacer llegar las NPs al tumor, y, el segundo, es encontrar sistemas que tengan la capacidad de disipar más calor con la menor cantidad de material posible. Respecto del punto anterior, existen varios esfuerzos a nivel internacional [56-57] y en nuestro grupo (trabajos en desarrollo), para la obtención de nanoflores de óxidos de hierro. Dicho sistema consiste un arreglo de NPM monodominio que se agrupan en forma de flor, las cuales debido a su tamaño y organización final disipan más calor que las partículas individuales. Por otro lado, en esta tesis se desarrolló el sistema $\text{Fe}/\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CitNa}$ que también alcanza dicho objetivo, sobre esto se profundizará más adelante.

Por último, se debe resaltar que la transducción de energía electromagnética en calor con NPM tiene otras aplicaciones como la distribución inteligente de agentes terapéuticos (sección 2.4.2), pero, además, puede ser aplicable en cualquier proceso que requiera un cambio de temperatura moderado y localizado mediante la aplicación de un campo RF sobre dichas NPM.

2.4.1.1 Obtención de materiales para hipertermia magnética

En la actualidad existen múltiples procedimientos para la obtención de materiales que tienen aplicación en HM. Entre ellos destacan los óxidos de hierro que presentan características de biocompatibilidad y baja toxicidad que los hace idóneos para este

tipo de aplicaciones [58]. Idealmente los materiales para esta terapia deberían poseer las siguientes propiedades:

1. Alta respuesta magnética. Una mayor respuesta facilita su manipulación remota y permite obtener un determinado efecto con una dosis menor.
2. comportamiento superparamagnético a temperatura ambiente. Este es el comportamiento de equilibrio de una NPM, por lo tanto, se caracteriza por la ausencia de coercitividad y remanencia. La última propiedad es importante porque dificulta la agregación de NPMs y sus efectos negativos.
3. Baja polidispersidad. Una mayor uniformidad de tamaños implica una mayor uniformidad propiedades en general, en particular del tiempo de relajación. Una muy baja polidispersidad daría lugar entonces a una respuesta en frecuencia similar de todas las NPMs del sistema.

Como veremos más adelante en ocasiones puede ser beneficioso relajar algunos de estos requisitos.

La obtención de este tipo de materiales se puede hacer por métodos físicos, como mecano-síntesis, o químicos, como coprecipitación, descomposición térmica, etc. Una de las ventajas que tienen los métodos químicos sobre los de obtención física, es que tienen tamaños de partícula más acotados, en este ítem destaca la descomposición térmica, aunque la mecano-síntesis es un proceso de escalado relativamente sencillo que permite la obtención de mayor cantidad de material. A continuación, se presentarán rápidamente las características de algunos métodos químicos para la obtención de NPs. Respecto a la mecano-síntesis, ésta ya fue detallada anteriormente.

- **Co-precipitación:** Es uno de los procedimientos más usados para la obtención de óxidos de hierro nanoparticulado. Típicamente se usan dos reactivos, uno que sirva de fuente de Fe^{2+} , y otro que provea Fe^{3+} , todo esto en fase acuosa y en un ambiente básico, pH 11-12 generalmente. El tamaño medio de las NPs obtenidas por este método se puede regular por el pH, relación $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$, velocidad de suministro de la base y temperatura principalmente. Los trabajos más destacados a este respecto son los de Khallafalla y Reimers [59] y Massart [60]. Los tamaños obtenidos por este método típicamente están en el rango de los 5 – 15 nm.
- **Descomposición térmica:** Este tipo de síntesis destaca por la uniformidad de tamaños de las NPs obtenidas. Se fundamenta en la descomposición térmica de compuestos organometálicos (precursores) en solventes orgánicos en ebullición. El tamaño y morfología de las partículas obtenidas es regulado por la relación entre precursores, surfactantes y solventes usados durante la síntesis, y por la temperatura. Los trabajos más destacados son los de Hyeon et. al., [61] y Park et. al. [62].
- **Reacción hidrotermal:** Las reacciones hidrotermales son realizadas en autoclave y en medio acuoso. Las temperaturas típicas para esta reacción bordean los 200 °C y presiones de trabajo suelen estar por encima de 1.4×10^7 Pa. Esta reacción se fundamenta en la capacidad que tiene el agua para hidrolizar y deshidratar sales metálicas a alta temperatura, y, en la baja

solubilidad en agua de las partículas obtenidas. El tamaño y la morfología de las NPM es controlado principalmente por las concentraciones de los precursores químicos, la temperatura y el tiempo de autoclavado. Los tamaños típicos obtenidos se encuentran en el rango 10 - 50 nm [63].

2.4.1.2 Recubrimiento de nanopartículas magnéticas

El uso de recubrimientos de NPM es usado comúnmente en las aplicaciones biomédicas. Con este procedimiento se busca generalmente estabilizar las NPs, mejorar la biocompatibilidad y funcionalizar el sistema, principalmente. En el sistema Fe/Fe₃O₄@CitNa que es objeto de estudio de esta tesis, el rol de biocompatibilidad lo cumple la magnetita y el de estabilización el citrato de sodio. A continuación, se describen las principales características que se buscan mejorar con un recubrimiento en una NPM.

- **Biocompatibilidad:** Para el caso del sistema de estudio de esta tesis, se buscó mejorar la biocompatibilidad del núcleo de hierro con una capa de magnetita. Esto se debe a que los óxidos de hierro tienen una alta biocompatibilidad [58], y, además, son los únicos materiales aprobados por la Organización Mundial de Salud (OMS) para este tipo de aplicaciones.
- **Estabilización:** La estabilización electrostática tiene como finalidad obtener coloides estables en el tiempo y evitar la aglomeración de NPM debida a las interacciones de Van der Waals y dipolares [38]. Dicha aglomeración no es deseable ya que puede obstruir vasos sanguíneos y otros canales biológicos. En nuestro sistema de estudio, el rol de la estabilización lo cumple el citrato de sodio.
- **Funcionalización:** Esta característica dependerá de la aplicación. Algunas de las aplicaciones más importantes son el *drug delivery* [64] y el contraste de la resonancia magnética de imágenes [65].

2.4.1.3 Tiempos característicos vinculados a la disipación de potencia bajo irradiación con un campo de radiofrecuencia

En estos sistemas la disipación de potencia se debe a la relajación de Néel y de Brown, a los tiempos característicos de estos mecanismos y su relación con el tiempo característico de la excitación $\tau_{RF} = \omega^{-1}$, donde $\omega = 2\pi f$, siendo f la frecuencia del campo. Dichos mecanismos involucran las características estructurales, magnéticas y morfológicas de las NPs, esto fue descrito detalladamente en la sección 2.3.8. Sin embargo, y a modo de resumen, se presentan las expresiones que permiten calcular los tiempos de relajación de Néel y Brown con los que se van a analizar algunos de los resultados experimentales de esta tesis:

$$\tau_N = \tau_0 e^{KV/k_B T}, y, \tau_B = \frac{3\eta V_H}{k_B T},$$

Como se explicó anteriormente, el primero se relaciona con la rotación del momento magnético de NP respecto de un marco de referencia fijo en la NP, y el segundo, con la rotación de la NP (modelo de dipolo rígido).

2.4.2 Distribución inteligente de agentes terapéuticos

Los tratamientos farmacológicos requieren que las sustancias activas mantengan una concentración localizada lo suficientemente grande en el tiempo para poder tener un efecto terapéutico sobre algún tipo de dolencia, buscando, de manera ideal, que no haya efectos secundarios o que estos sean mínimos [66]. Esa necesidad, junto con el desarrollo de materiales de tamaño nanométrico, hizo que se hicieran investigaciones en materiales que pudieran ser funcionalizados con un medicamento y que pudiera, a su vez, ser entregado de manera localizada.

En la literatura se reportan diferentes nano o microvehículos, desarrollados a partir de polímeros de alto peso molecular y solubles en agua, nanopartículas magnéticas funcionalizadas, ferrogel, liposomas, etc. [67-69]. La característica fundamental de este tipo de sistemas es la capacidad de presentar una respuesta importante a un estímulo externo (por ejemplo, un campo magnético externo) que le permita liberar un fármaco o sustancia terapéutica.

En la literatura existen muchos reportes que intentan modelar la cinética de entrega de los medicamentos, respecto a esto destaca el trabajo de Dash et. al. [70], el cual es uno de los más aceptados en este tipo de investigaciones. En su trabajo Dash hace una recopilación de los modelos más aceptados, partiendo de la relación:

$$dM/dt = KS(C_s - C_t), \text{ Ec. 2.61.}$$

Siendo M la masa transferida en función del tiempo t, KS cuantifica la disolución de los medicamentos entregados, C_s es la concentración de equilibrio y C_t la concentración en un tiempo determinado. Su reporte hace una comparación crítica mostrando las ventajas y desventajas de cada uno de los modelos.

Para el caso de esta tesis doctoral, esta aplicación queda como un trabajo a futuro. En esa dirección se están adelantando propuestas de colaboración con el Laboratorio de Materiales Compuestos Termoplásticos (CoMP) del INTEMA (Mar del Plata) y con el Laboratorio de Nanomedicina de CNEA-CAC (Buenos Aires), con el fin de buscar aplicaciones en ferrogel y magnetoliposomas, respectivamente. Todo esto es posible debido a la versatilidad del sistema Fe/Fe₃O₄@CitNa desarrollado y a la cantidad de material que se puede procesar por cada molienda realizada.

2.5 REFERENCIAS

- [1] J. S. Benjamin. "Dispersion strengthened superalloys by mechanical alloying". Metallurgical Transactions. Vol. 1. 2943. 1970.
- [2] C. Suryanarayana. "Mechanical Alloying and Milling". Ed. Marcel Dekker. 2004.
- [3] C. Suryanarayana. "Mechanical alloying and milling". Progress in Materials Science. 46. (2001) 1-184
- [4] P. G. McCormick. "The fundamentals of mechanochemical processing". The Journal of The Minerals, Metals & Materials Society. Volume 50. Issue 11. Págs: 61-65. 1998.
- [5] R. B. Schwarz. "Microscopic model of mechanical alloying". Materials Science Forum Vols. 269-272 (1998) pp 665-674.

- [6] P. Karinkanta, M. Illikainen, J. Niinimäki. "Impact-based pulverisation of dried and screened Norway spruce (*Picea abies*) sawdust in an oscillatory ball mill". *Powder Technology* 233 (2013) 286–294.
- [7] A. R. Yavari, P. J. Desré, T. Benamer. "Mechanically driven alloying of immiscible elements". *Physical Review Letters*. Vol. 64. No. 14. 1992.
- [8] Y. Cheng, M. Bibole, R. Le Hazib, G. Martin. "Ball-milling-induced amorphization in Ni₂Zr₃ compounds: A parametric study". *Physical Review B*. Vol. 48. No. 1. 1993.
- [9] P. Pochet, E. Tominez, L. Chaffron, G. Martin. "Order-disorder transformation in Fe-Al under ball milling". *Physical Review B*. Vol. 52. No. 6. 1995.
- [10] M. Meyer, L. Mendoza-Zélis, F. H. Sánchez. "Mechanical milling of the intermetallic compound AlFe". *Physical Review B*. Vol. 60. No. 5. 1999.
- [11] T. Tsuzuki, P. G. McCormick. "Mechanochemical synthesis of nanoparticles". *Journal of Materials Science*. Volume 39. Págs: 5143 – 5146. 2004.
- [12] J. Ding, W. F. Miao, P. G. McCormick, R. Street. "Mechanochemical synthesis of ultrafine Fe powder". *Applied Physics Letters*. Volume 67. 1995.
- [13] P. G. McCormick, T. Tsuzuki, J. S. Robinson, J. Ding. "Nanopowders Synthesized by mechanochemical Processing". *Advanced Materials*. Volume 13. 2001.
- [14] Y. Todaka, P. G. McCormick, K. Tsouchiya, M. Umemoto. "Synthesis of Fe-Cu nanoparticles by mechanochemical processing using ball milling". *Material Transactions*. Volume 43. Págs: 667 – 673. 2002.
- [15] G. B. Schaffer, P. G. McCormick. "The direct synthesis of metal and alloys by mechanical alloying". *Material Science Forum*. Volume 88. Págs: 779 – 786. 1992.
- [16] P. G. McCormick. "Application of mechanical alloying to chemical remining (Overview)". *Material Transaction*. Volume 36. Págs: 161 – 169. 1995.
- [17] N. Greenwood, T. C. Gibb. "Mössbauer Spectroscopy". Chapman and Hall. First edition. 1971.
- [18] B. D. Cullity, C. D. Graham. "Introduction to magnetic materials". John Wiley and Sons. 2009.
- [19] N. A. Spaldin. "Magnetic materials: fundamentals and applications". Cambridge University Press, 2010.
- [20] R. C. O'Handley. "Modern Magnetic Materials: Principles and Applications". John Wiley & sons, INC. 2000.
- [21] I. J. Bruvera. "Disipación de potencia por nanopartículas magnéticas expuestas a campos de radiofrecuencia para terapia oncológica por hipertermia". Tesis doctoral. 2015.
- [22] K. Petcharoen, A. Sirivat. "Synthesis and characterization of magnetite nanoparticles via the chemical co-precipitation method". *Materials Science and Engineering B*. Volume 177. Págs: 421– 427. 2012.
- [23] K.S. Suslick, M.M. Fang, T. Hyeon, M.M. Mdleleni. "Applications of sonochemistry to materials synthesis". *Sonochemistry and Sonoluminescence*. Págs: 291-320. 1999.
- [24] G. Salas, C. Casado, F. J. Teran, R. Miranda, C. J. Sernab, M. P. Morales. "Controlled synthesis of uniform magnetite nanocrystals with high-quality properties for biomedical applications". *Journal of Materials Chemistry*. Volume 22. Págs: 21065 - 21075. 2012.
- [25] X. Wang, J. Zhuang, Q. Peng, Y. D. Li. "A general strategy for nanocrystal synthesis". *Nature*. Volume 437. Págs: 121-124. 2005.

- [26] J. L. Neuringer, R. E. Rosensweig. "Ferrohydrodynamics". Phys. Fluids. Vol 7. PP. 1927. 1964.
- [27] M.I. Shliomis. "Magnetic Fluid". Soviet Physics Uspekhi. Vol. 17(2). PP. 153-169. 1974.
- [28] G. C. Papaefthymiou. "Nanoparticle magnetism". Nano Today. Vol. 4. 438—447. 2009.
- [29] D. Sander, R. Skomski, C. Schmidthals, A. Enders, and J. Kirschner. "Film Stress and Domain Wall Pinning in Sesquilayer Iron Films on W (110)". Physical Review Letter. Vol. 77(12). PP. 2566-2570. 1996.
- [30] J. Crangle, G. M. Goodman. "The magnetization of pure iron and nickel". Proc. R. Soc. Lond. A. Vol. 321. 477-491. 1971.
- [31] H. P. Klein, E. Kneller. "Variation of Magnetocrystalline Anisotropy of Iron with Field and Temperature". Physical Review. Vol. 144(2). 1965.
- [32] E.C. Stoner, E.P. Wohlfarth. "A Mechanism of Magnetic Hysteresis in Heterogeneous Alloys". Philosophical Transactions of the Royal Society A. Vol. 240 (849), 599. 1948.
- [33] F.E. Luborsky. "Development of Elongated Particle Magnets". Journal of Applied Physics. Vol. 32, S171. 1961.
- [34] D. F. Coral. "Estructuras Dipolares Magnéticas en Suspensiones Magnéticas Coloidales y su Influencia en Hipertermia Magnética". Tesis doctoral. 2015.
- [35] C.P. Bean, J.D. Livingston. "Superparamagnetism". Journal of Applied Physics. Vol. 30 (4). S120-S129. 1959.
- [36] H. Pfeiffer. "Relaxation Behaviour of Magnetic Particle Assemblies Due to Thermal Fluctuations". Physica Status Solidi A. Vol. 120. 233. 1990.
- [37] P. Allia, M. Coisson, P. Tiberto, F. Vinai, M. Knobel, M. A. Novak, W. C. Núñez. "Granular Cu-Co alloys as interacting superparamagnets". Physical Review B. Vol. 64. 144420. 2001.
- [38] F.H. Sánchez, P. Mendoza Zélis, M.L. Arciniegas, G.A. Pasquevich, M.B. Fernández van Raap. "Dipolar interaction and demagnetizing effects in magnetic nanoparticle dispersions: introducing the Mean Field Interacting Superparamagnet Model (MFISP Model)". Physical Review B. Vol. 95. 134421. 2017.
- [39] J. García-Otero, A.J. García-Bastida, J. Rivas. "Influence of temperature on the coercive field of non-interacting fine magnetic particles". Journal of Magnetism and Magnetic Materials. Vol. 189 (3)- 377-383. 1998.
- [40] W.F. Brown Jr. "Thermal Fluctuations of a Single Domain Particle". Physical Review. Vol. 130 (5). 1677-1668. 1963.
- [41] L. Néel. "Théorie du traînage magnétique des substances massives dans le domaine de Rayleigh". Ann. Géophys. Vol. 5. 99-136. 1949.
- [42] K. A. Dill, S. Bromberg. "Molecular Driving Forces: Statistical thermodynamic in Chemistry and Biology". Ed. Garland Science. 2003.
- [43] D. Pedjatovic, J. L. Manson, J. s. Miller, A. J. Epstein. "Photoinduced magnetism, dynamics and cluster glass behavior of a molecule-based magnet". Physical Review Letters. vol. 85. No. 9. 2000.
- [44] G.T. Landi. "The random dipolar-field approximation for systems of interacting magnetic particles". Journal of Applied Physics. Vol. 113. 163908. 2013.

- [45] J.L. Dormann, L. Bessais, D. Fiorani. "A dynamic Study of Small Interacting Particles: Superparamagnetic Model and Spin-Glass Laws". *Journal of Physics C: Solid State Physics*. Vol. 21. 2015-2034. 1988.
- [46] M. E. de Sousa, M. B. Fernández van Raap, P. C. Rivas, P. Mendoza Zélis, P. Girardin, G. A. Pasquevich, J. L. Alessandrini, D. Muraca, F. H. Sánchez. "Stability and Relaxation Mechanisms of Citric Acid Coated Magnetite Nanoparticles for Magnetic Hyperthermia". *J. Phys. Chem. C*. Vol. 117. 5436–5445. 2013.
- [47] M. E. L. de Sousa. "Nanopartículas magnéticas para hipertermia intracelular: sensibilidad de células A549". Tesis doctoral. 2014.
- [48] G. Liu, Z. Wang, S. Lee, H. Ai, X. Chen. "Design and Fabrication of N-Alkyl-Polyethylenimine-Stabilized Iron Oxide Nanoclusters for Gene Delivery". *Methods in Enzymology*, Volume 509. 263 – 277. 2012.
- [49] E. A. Perigo, G. Hemery, O. Sandre, D. Ortega, E. Garaio, F. Plazaola, F. J. Teran. "Fundamentals and advances in magnetic hyperthermia". *Applied Physics Reviews*. Vol. 2. 041302 - 041337. (2015).
- [50] S. Dutz, R. Hergt. "Magnetic particle hyperthermia—a promising tumour therapy?". *Nanotechnology*. Vol. 25. 452001 – 452030. 2014.
- [51] M. Johannsen, U. Gneveckow, B. Thiesen, K. Taymoorian, C. Hee Cho, N. Waldöfner, R. Scholz, A. Jordan, S. A. Loening, P. Wust. "Thermotherapy of Prostate Cancer Using Magnetic Nanoparticles: Feasibility, Imaging, and Three-Dimensional Temperature Distribution". *European urology*. Vol. 52. 1653–1662. 2007.
- [52] B. Hildebrandt, P. Wust, O. Ahlers, A. Dieing, G. Sreenivasa, T. Kerner, R. Felix, H. Riess. "The cellular and molecular basis of hyperthermia". *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. Vol. 43. 33–56. 2002.
- [53] M. Johannsen, U. Gneveckow, K. Taymoorian, B. Thiesen, N. Waldoefner, R. Scholz, K. Jung, A. Jordan, P. Wust, S. Loening. "A Morbidity and quality of life during thermotherapy using magnetic nanoparticles in locally recurrent prostate cancer: results of a prospective phase I trial". *Int. J. Hyperthermia*. Vol. 23. 315-23. 2007.
- [54] M. Johannsen, B. Thiesen, P. Wust, A. Jordan. "Magnetic nanoparticle hyperthermia for prostate cáncer". *Int. J. Hyperthermia*. Vol. 26. 790-795. 2010.
- [55] K. Maier-Hauff, F. Ulrich, D. Nestler, H. Niehoff, P. Wust, B. Thiesen, H. Orawa, V. Budach, A. Jordan. "Efficacy and safety of intratumoral thermotherapy using magnetic iron-oxide nanoparticles combined with external beam radiotherapy on patients with recurrent glioblastoma multiforme". *J Neurooncol*. Vol. 103. 317–324. 2011.
- [56] P. Hugounenq, M. Levy, D. Alloyeau, L. Lartigue, E. Dubois, V. Cabuil, C. Ricolleau, S. Roux, C. Wilhelm, F. Gazeau, R. Bazzi. "Iron Oxide Monocrystalline Nanoflowers for Highly Efficient Magnetic Hyperthermia". *J. Phys. Chem. C*. Vol. 116. 15702–15712. 2012.
- [57] H. Gavilán, A. Kowalski, D. Heinke, A. Sugunan, J. Sommertune, M. Varón, L. K. Bogart, O. Posth, L. Zeng, D. González-Alonso, C. Balceris, J. Fock, E. Wetterskog, C. Frandsen, N. Gehrke, C. Grüttner, A. Fornara, F. Ludwig, S. Veintemillas-Verdaguer, C. Johansson, M. Puerto Morales. "Colloidal Flower-Shaped Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis Strategies and Coatings". *Part. Part. Syst. Charact.* 1700094-1700106. 2017.
- [58] H. Markides, M. Rotherham, A. J. ElHaj. "Biocompatibility and Toxicity of Magnetic Nanoparticles in Regenerative Medicine". *Journal of Nanomaterials*. Vol: 2012. Págs. 11. 2012.

- [59] S. E. Khalafalla, G. W. Reimers. "Preparation of dilution stable aqueous magnetic fluids". IEEE Trans. Magn. Vol. 16. 178 - 183. 1980.
- [60] R. Massart. "Preparation of aqueous ferrofluids without using surfactant behavior as a function of the pH and the counterions". C. R. Hebd. Seances Acad. Sci. C. Vol. 291. 1 - 3. 1980.
- [61] T. Hyeon, S. S. Lee, J. Park, Y. Chung, H. Bin Na. "Synthesis of highly crystalline and monodisperse maghemite nanocrystallites without a size selection process". J. Am. Chem. Soc. Vol. 123. 12798-801. 2001.
- [62] J. Park, E. Lee, N. M. Hwang, M. Kang, S. C. Kim, Y. Hwang, J. G. Park, H. J. Noh, J. Y. Kim, J. H. Park, T. Hyeon. "One nanometer scale size controlled synthesis of monodisperse magnetic iron oxide nanoparticles". Angew. Chem. Int. Vol. 44. 2872-7. 2005.
- [63] H. Hayashi, Y. Hakuta. "Hydrothermal synthesis of metal oxide nanoparticles in supercritical water". Materials. Vol. 3. 3794-3817. 2010.
- [64] É. L. Silva-Freitas, J. Fernandes Carvalho, T. R. F. Pontes, R. P. Araújo-Neto, A. Silva Carriço, E. S. Tabosa Egito. "Magnetite Content Evaluation on Magnetic Drug Delivery Systems by Spectrophotometry: A Technical Note". AAPS Pharm. Sci. Tech, Vol. 12, No. 2, 2011.
- [65] H. Khurshid, C. G. Hadjipanayis, H. Chen, W. Li, H. Mao, R. Machaidze, V. Tzitzios, G. C. Hadjipanayis. "Core/shell structured iron/iron-oxide nanoparticles as excellent MRI contrast enhancement agents". Journal of Magnetism and Magnetic Materials 331 (2013) 17–20.
- [66] C. Alvarez-Lorenzo, A. Concheiro. "Smart drug delivery systems: from fundamentals to the clinic". Chem. Commun. Vol. 50. 7743-7765. 2014.
- [67] C. E. Carraher Jr. "Polymer chemistry". Marcel Decker press. Sixth edition. 2003.
- [68] W. A. Brunecker, K. Matyjaszewsky. "Controlled/living radical polimeration: features, developments, and perspectives ". Porg. Polym. Sci. Vol. 32. 93-146. 2007.
- [69] G. Moad, E. Rizzardo, S. H. Thang. "Radical addition - fragmentation chemistry in polymer synthesis". Polymer. Vol. 49. 1079-1131. 2008.
- [70] S. Dash, P. D. Murthy, L. Nath, P. Chowdury. "Review: Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems". Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research. Vol. 67. No. 3. 217-223. 2010.

*“El éxito es la capacidad de ir de fracaso en fracaso
sin perder el entusiasmo”.*

Winston Churchill (1864 - 1965)

Capítulo 3: MATERIALES Y MÉTODOS

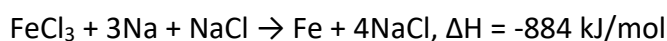
En este capítulo se hará una descripción de la metodología de trabajo, y se detallarán las distintas etapas que se siguieron para la obtención del sistema Fe/Fe₃O₄@CitNa. Posteriormente, se describirán las técnicas de caracterización usadas como son: espectroscopía de efecto Mössbauer (EM), difracción de rayos X (DRX), magnetometría de muestra vibrante (VSM), magnetometría con dispositivo superconductor de interferencia cuántica (SQUID), dispersión de rayos X a bajos ángulos (SAXS), microscopía electrónica de transmisión (TEM), potencial Z, difracción de electrones (DE), dispersión dinámica de luz (DLS), velocidad específica de absorción (SAR) y pruebas de viabilidad celular.

3.1 METODOLOGÍA DE TRABAJO

Para la obtención del sistema Fe/Fe₃O₄@CitNa se diseñaron 4 etapas. En cada una de ellas se hace un seguimiento con distintas técnicas de caracterización propias de cada etapa, todo esto hasta llegar al sistema estabilizado mencionado anteriormente. Dichas etapas se enuncian a continuación:

3.1.1 Etapa 1: Obtención de las nanopartículas de hierro (Fe)

El objetivo principal de esta etapa era obtener el núcleo de Fe en tamaño nanométrico, así como optimizar las condiciones de molienda. Para ello se tuvo como base los trabajos hechos por McCormick et. al. [1-4]. En dichos trabajos se plantea un procedimiento para la obtención de NPs de Fe metálico a partir de FeCl₃ anhidro, sodio (Na) y sal común (NaCl) como dispersante. La reacción planteada por McCormick es la siguiente:



Si bien esta reacción se demostró que funciona, presenta la dificultad en la manipulación del Na, el cual posee una alta reactividad por lo que debe ser manipulado inmerso en queroseno.

Básicamente, la reacción consiste en emplear el Na para quitar los cloros del FeCl₃ formando sal común y Fe metálico. Para evitar los problemas ocasionados por el Na, se plantearon distintas reacciones con elementos que reaccionan con el Cl y pudieran formar sales, y que, además, fueran de fácil manipulación. Las reacciones seleccionadas fue la siguiente:



El producto final es Fe y dos sales: NaCl y MgCl₂. Dichas sales pueden ser disueltas fácilmente con agua, permitiendo aislar el Fe que va a servir como núcleo de nuestro sistema coloidal.

Se usó el molino oscilatorio Retsch 2000 (Fig. 3.1) para hacer las pruebas preliminares que permitieron determinar las condiciones óptimas. Se hicieron moliendas variando

el aporte de Mg a la reacción, empleando porcentajes del 90%, 95% y 100% de la estequiometría ideal, y manteniendo un tiempo constante de molienda de 6 horas. Con esto se quiso evitar que quedaran restos de Mg sin reaccionar, el cual podría resultar difícil de eliminar de los productos de reacción.

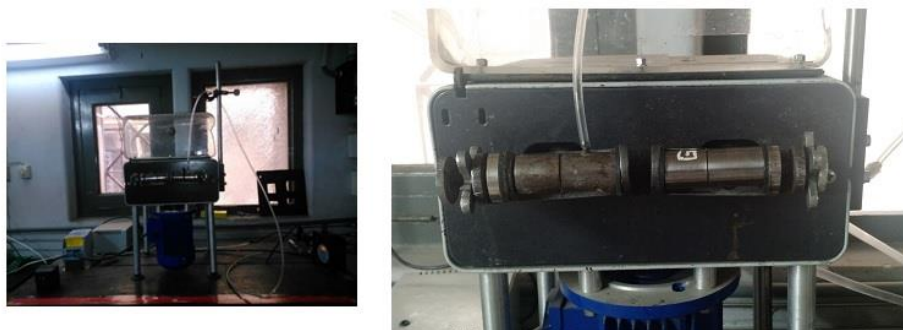


Fig. 3.1. Molino oscilatorio Retsch 2000.

El modelo Retsch 2000 es un modelo que funciona según lo descrito en la sección 2.1.1. Este molino ha sido modificado con anterioridad al presente trabajo, mediante el reemplazo del motor original por uno tipo “brushless”, más robusto, que le permite operar durante intervalos más prolongados y alcanzar frecuencias de trabajo más altas. Además, se ha desarrollado un sistema de monitoreo de presión en la cámara de trabajo durante el procesamiento, habiéndose diseñado ésta especialmente para ese fin. La cámara está conectada con un sistema que permite purificar la atmósfera de trabajo mediante “lavajes” con ciclos argón-vacío. En este trabajo se hizo un total de 5 “lavajes” hasta colocar la atmósfera final de trabajo. El sensor con el que se hace el seguimiento durante la molienda tiene una sensibilidad de 0.03 bar y toma una medida cada segundo.

Las condiciones experimentales fueron las siguientes: frecuencia de oscilación de 32 Hz y amplitud de movimiento de 8 mm, 6 horas de molienda continua y una atmósfera de argón (3 bar de presión inicial, en todos los casos). El molino cuenta con reactores tienen un volumen de trabajo de 8 cm³, además, se usó una esfera de acero de 7 mm de diámetro con un peso de 7.83 g; como el molino permite trabajar con un máximo de 0.5 g de reactivos totales, se obtiene una relación de masa de esfera – reactivos de 15.66. En esta etapa la caracterización de control se hizo mediante espectroscopia Mössbauer, la cual permitió identificar el espectro típico de una reacción incompleta (Mg 90% y 95%) y el de una reacción completa (Mg 100%). También se caracterizó el producto del procesamiento por VSM, lo cual permitió conocer el valor de la magnetización de saturación del material obtenido, conteniendo hierro en tamaño nanométrico. Los detalles de estas técnicas se presentarán más adelante.

Cabe resaltar que después de haber obtenido las condiciones ideales de molienda y de producto final, este proceso fue escalado en el molino planetario Pulverisette 7 (Fig. 3.2), el cual permite trabajar con una mayor masa de reactivos totales, lo que conlleva a una producción mayor de NPs de Fe.



Fig. 3.2. Molino planetario Pulverisette 7.

El proceso de escalado tenía como objetivo obtener la mayor cantidad de NPs de Fe posible evitando la aparición de otras fases conteniendo Fe. Para esto se hicieron experimentos variando la relación de masa de reactivos – masa de esferas y/o el tiempo de molienda.

Se usaron relaciones de masa de reactivos – masa de esferas de: 1:6, 1:8, 1:12, 1:16 y 1:24 y tiempos de molienda efectivos de 6, 9, 12, 15, 18 y 24 horas. Se realizó el procesamiento en atmósfera de argón (1 Bar), usando la cantidad estequiométrica de Mg (100%) y a una frecuencia de rotación de 3400 rpm. Cabe resaltar que la molienda en este molino se realiza de manera discontinua, es decir, 15 minutos de molienda seguidos de 15 de reposo, esto para evitar el calentamiento del molino y prevenir su mal funcionamiento.

El modelo Pulverisette 7 con el que se cuenta en nuestro grupo de investigación funciona según lo descrito en la sección 2.1.2., además, los reactores originales fueron reemplazados por otros diseñados en el Departamento de Física y fabricados por el Ing. Juan José Muriel, quien pertenece al programa de Ingeniería Mecánica de la Universidad Tecnológica Nacional (UTN), sede La Plata (Fig. 3.3).



Fig. 3.3. Reactores de trabajo, molino Pulverisette 7.

Los reactores tienen un volumen de trabajo de 72 cm³. En cada uno se introdujeron 5 esferas de acero inoxidable reforzado de 7 mm de diámetro y masa de 8.51 g por esfera y 2 esferas de 4 mm de diámetro y masa 2.79 g. La masa total de las esferas fue de 48.07 g. En esta etapa las pruebas de caracterización de control fueron mediante espectroscopia Mössbauer y VSM, de igual manera que con los polvos obtenidos con el modelo Retsch 2000.

3.1.2 Etapa 2: Disolución de las sales

En esta etapa disolvieron las sales presentes en el producto de la molienda (MgCl₂ y NaCl). Para esto se usaron 150 mL agua miliQ y un vaso de precipitado de 250 mL, se

aplicó agitación manual y posteriormente se separó magnéticamente el Fe con un imán de NdFeB (50 mm de diámetro, 1.2 mm de espesor y polarizado en la dirección axial) para poder descartar el sobrenadante. Seguidamente se hizo un lavado con alcohol comercial Purocol al 96%, seguido de una nueva separación magnética y luego se almacenó el material separado en una cámara con atmósfera controlada de argón hasta su secado total. La cámara empleada es modelo PLAS LAB, que además cuenta con control de oxígeno y humedad. Las condiciones óptimas fueron de 10 ppm de oxígeno y 0.1% de humedad. Las pruebas de control en esta etapa se llevaron a cabo por DRX y VSM, los detalles de estas técnicas de caracterización se darán más adelante.

3.1.3. Etapa 3: Recubrimiento con Fe_3O_4

Después de haber obtenido las NPs de Fe y de haber sido separadas de las sales, se pasa al proceso de recubrimiento con Fe_3O_4 , para conferir biocompatibilidad [5] y facilitar el proceso de estabilización electrostática del coloide.

La elección de la magnetita como recubrimiento, obedece a sus propiedades de biocompatibilidad y a la experiencia del grupo y de colaboradores para preparar coloides estables de este material mediante estabilización electrostática.

El recubrimiento de Fe_3O_4 se hizo por coprecipitación asistida por ultrasonido, tomando como centro de nucleación las NPs de Fe. Este procedimiento contó con la asesoría de la Dra. Silvia Jacobo del Laboratorio de Fisicoquímica de Materiales Cerámicos Electrónicos (LAFMACEL), Facultad de Ingeniería, Universidad de Buenos Aires [6]. En primera medida se colocaron aproximadamente 100 mg de NPs de Fe en 20 mL de agua miliQ con burbujeo de N_2 bajo agitación por ultrasonido para desaglomerar los polvos durante 15 minutos. Seguidamente se disolvieron las sales de Fe^{3+} y Fe^{2+} ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) en 30 mL de agua miliQ. Los reactivos disueltos fueron agregados a las NPs que venían siendo agitadas. Posteriormente, se agregó NH_4OH hasta obtener un pH entre 11 y 12. Todo esto se mantuvo en agitación ultrasónica durante 1.75 horas para obtener así el recubrimiento de magnetita.

3.1.3.1 Cálculos para obtener el recubrimiento de Fe_3O_4

Los cálculos se hicieron con el objetivo de obtener una capa ideal de magnetita de 1 nm de espesor. Para ello se parte de NPs de Fe esféricas con un radio r_{Fe} y un recubrimiento de magnetita de espesor ΔE_{mag} . El espesor antes mencionado se eligió debido a que se quiere mantener una respuesta magnética lo más alta posible.

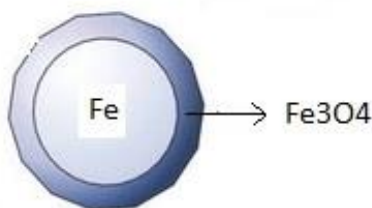


Fig. 3.4. Esquema de una nanopartícula de Fe con recubrimientos de magnetita.

El volumen de la NP de Fe es:

$$V_{Fe} = \frac{4}{3}\pi r_{Fe}^3, \text{ Ec. 3.1.}$$

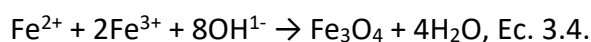
Teniendo el volumen y con la densidad del hierro (7.87 g/cm^3), se puede obtener la masa de una NP de dicho metal. Este dato se va a requerir más adelante para calcular la relación entre la masa de la NP (m_{Fe}) y la masa del recubrimiento (m_{Mag}). Seguidamente se busca el volumen del recubrimiento (espesor 1 nm), el cual junto con la densidad de la magnetita permite obtener la masa total del recubrimiento. Dicho volumen se puede obtener con la expresión:

$$V_{Mag} = \frac{4}{3}\pi((r_{Fe} + \Delta E_{mag})^3 - (r_{Fe})^3), \text{ Ec. 3.2.}$$

Siendo r_{Fe} y ΔE_{mag} , el radio de la NP de Fe y espesor de la capa de magnetita, respectivamente. Con el valor de la densidad de la magnetita ($\rho = 5.2 \text{ g/cm}^3$) y el volumen calcula con la Ec. 3.2., se puede obtener la masa de la magnetita con la ecuación: $m = \rho V$. Después de tener las masas del núcleo de Fe y la masa de magnetita (m_{Fe} y m_{mag}), se puede hacer la relación:

$$\frac{m_{Fe}}{m_{mag}} = C, \text{ Ec. 3.3.}$$

Siendo C es una constante que permite calcular la masa de magnetita a partir de la masa de nanopartículas de hierro. Después de obtener la m_{mag} , esta se pasa a moles, para poder calcular la masa de las fuentes de Fe^{3+} y Fe^{2+} . Para esto se debe tener en cuenta que la reacción necesaria para formar magnetita es la que se describe en la Ec. 3.4:



Las masas de los reactivos ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$ y $FeCl_2 \cdot 4H_2O$), se obtienen con la masa de la magnetita en moles y su masa molar respectiva, usando los coeficientes de la Ec. 3.4. Por ejemplo, para 100 mg de NPs de Fe y un diámetro de 30 nm , se obtiene una relación de masas entre el Fe y Fe_3O_4 de 6.81 , lo que implica que la fuente de Fe^{2+} debe tener una masa de 11.73 mg y la fuente de Fe^{3+} debe tener una masa de 31.9 mg .

3.1.4 Estabilización del sistema Fe/Fe₃O₄

Una vez obtenido el sistema Fe/Fe₃O₄, se busca la estabilización electrostática del mismo. Para esto, inicialmente se intentó usar ácido cítrico, un surfactante que nuestro grupo viene empleando para estabilizar coloides de NPM de magnetita [7-8]. Nuestro razonamiento se basó en que dicha estabilización es un fenómeno superficial en el cual no interviene el núcleo de Fe. Además, se quería una capa de magnetita lo más delgada posible para asegurar la biocompatibilidad del sistema perdiendo la menor cantidad de respuesta magnética.

El ácido cítrico es un tri-carboxilo presente naturalmente en frutas ácidas como el

limón, naranja o kiwi [9]. Su fórmula química es $C_6H_8O_7$ y la estructura de su molécula se puede ver en la siguiente figura.

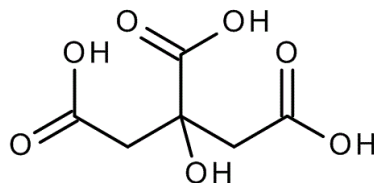


Fig. 3.5. Molécula ácido cítrico. Tomado Ref. [9].

Cuando el ácido cítrico se encuentra en solución libera hidrógenos (H), lo que permite, dependiendo del pH, la fijación de la molécula a la magnetita por uno, dos o tres de sus extremos. Este al ser fijado estabiliza electrostáticamente al coloide proporcionando a las NPs una carga negativa superficial correspondiente a un potencial Z de -30 mV aproximadamente [7]. Sin embargo, los primeros intentos de estabilización fueron infructuosos, ya que todos los coloides se degradaban rápidamente disolviéndose completamente. Por eso, se evaluó detenidamente la fase del recubrimiento con Fe_3O_4 , que se describió en la anterior etapa.

Como se recordará, para la obtención de la capa de magnetita se usan fuentes de Fe^{+3} y Fe^{+2} ricas en cloro, el cual se enlaza con los H que libera la molécula de ácido cítrico, formando ácido clorhídrico (HCl). Dicho ácido disuelve el hierro y óxidos de hierro, este fenómeno se documentó en la Ref. [8]. Es por eso que se hizo necesario hacer lavados al sistema Fe/Fe_3O_4 antes de proceder a su estabilización. Por otro lado, se observó que el ácido cítrico disuelve las NPs de Fe desnudas, el resultado de este experimento se observa en la Fig. 3.6.



Fig. 3.6. NPs de Fe desnudas disueltas con ácido cítrico.

Cabe resaltar que este experimento se hizo en medio acuoso. El pH final de la solución fue de 5.66.

Debido a que el sistema Fe/Fe_3O_4 podía ser atacado, en caso de un recubrimiento parcial, por el ácido cítrico, o por el HCl que se obtiene como producto de la estabilización ácido cítrico, se pensó en una solución alternativa. Esto condujo a la estabilización con citrato de sodio (CitNa), el cual tiene la misma estructura molecular que el ácido cítrico, con la única diferencia que se reemplazan los H por Na (Fig. 3.7).

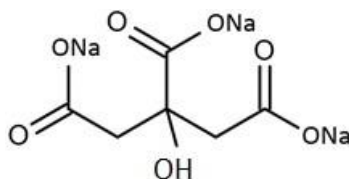


Fig. 3.7. Molécula de citrato de Sodio.

El CitNa tiene una ventaja importante, que fue la razón principal por la que finalmente se optó a estabilizar con este reactivo, y es que al liberar los Na, estos se enlazan con los Cl remanentes que quedaron libres en el proceso de formación de Fe_3O_4 , formando NaCl, además de lograr una buena estabilización del sistema. En la Fig. 3.8., se muestran tres coloides obtenidos por las rutas expuestas anteriormente.

Como se observa en la figura, el sistema Fe/ Fe_3O_4 se puede estabilizar con ácido cítrico (después de hacer lavados) o con citrato de sodio (sin necesidad de lavados). Sin embargo, durante el estudio del sistema se encontró que el coloide más estable fue el estabilizado con CitNa, por lo que se optó finalmente por hacer el producto final con este surfactante. El sistema final se denominó Fe/ Fe_3O_4 @CitNa.

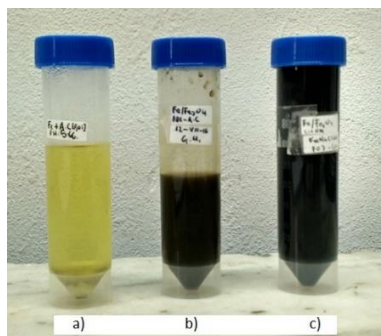


Fig. 3.8. Comparación de: a) NPs de hierro desnudo disueltas con ácido cítrico (pH final de 5.66), b) Sistema Fe/ Fe_3O_4 estabilizado con ácido cítrico (pH final igual 5.77), y, c) Fe/ Fe_3O_4 estabilizado con citrato de sodio (pH final de 8.31).

3.1.4.1 Procedimiento de estabilización con citrato de sodio

El procedimiento de síntesis fue sugerido por el Quim. Pablo Tancredi en una comunicación privada [10]. El protocolo seguido consta de 4 pasos principalmente.

- Disolver 0.4 g de citrato de sodio en 50 mL agua miliQ.
- Centrifugar o separar magnéticamente el sistema Fe/ Fe_3O_4 y desechar el sobrenadante.
- Re-suspender el sistema Fe/ Fe_3O_4 con la solución del primer paso.
- Agitar bajo ultrasonido durante 1.25 h a una temperatura en el rango de los $40^\circ\text{C} - 50^\circ\text{C}$.

Al completar estos 4 pasos, el sistema se encuentra estabilizado. Las caracterizaciones hechas al producto final se detallan a continuación. Por otro lado, en esta tesis se usaron las muestras estabilizadas: Fe6HP02, Fe6HP03 y Fe9HP01. La nomenclatura

corresponde a partículas de hierro (**Fe**), tiempo de molienda en horas (**6H** o **9H**) y relación de masas usada durante el proceso de molienda (**P02** = 1:16, **P03** = 1:24 y **P01** = 1:12).

3.2 TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN

A continuación, se describen las técnicas de caracterización usadas a lo largo de esta investigación en cada una de las etapas que se siguieron hasta la obtención del coloide estabilizado.

3.2.1 Espectroscopia Mössbauer (EM)

La espectroscopia Mössbauer se usó como una caracterización de control en la primera etapa. Dicha etapa se refiere a la obtención de los núcleos de Fe. En la misma se usaron los polvos tal cual salieron de la molienda, es decir, con presencia de sales. Estas últimas al no contener Fe no afectan el espectro medido.

Los espectros Mössbauer obtenidos, se hicieron a temperatura ambiente en geometría de transmisión con una fuente nominal ^{57}Co de 0.3 mCi en matriz Rh, y, con un perfil de velocidad triangular con bordes suavizados. El corrimiento isomérico está referido al Fe metálico a temperatura ambiente. El equipo pertenece a nuestro grupo de investigación (Grupo de Magnetismo y Materiales Magnéticos - G3M).

Se prepararon absorbentes de 55 mg uniformemente distribuidos en porta-absorbentes circulares de plástico transparente de 2 cm de diámetro. Éstos se sellaron con silicona comercial para evitar la oxidación de los núcleos de Fe, después se midieron durante 3 a 5 días. Se observó que con 3 días se obtenía un espectro de calidad razonable, y también, que a partir del sexto día se empezaba a oxidar la muestra. Esto último se debe a la dificultad de sellar perfectamente el contenedor plástico.

3.2.2 Magnetometría de muestra vibrante (VSM)

Esta técnica de caracterización se usó para hacerle seguimiento a las muestras en las distintas etapas hasta llegar al coloide estabilizado. Dichas etapas son tres: la primera, polvos con presencia de sales. La segunda, polvos secos y después de haber disuelto las sales con agua miliQ. Y, por último, la tercera etapa, que es coloide estabilizado. El objetivo de este seguimiento fue ver la evolución de la magnetización de saturación M_s en cada una de las etapas, ya que se esperaba una disminución de la misma a través de las etapas sucesivas, lo cual finalmente se comprobó. Esto será discutido en la sección de resultados.

Las medidas fueron hechas con el VSM modelo Lakeshore 7404 VSM del laboratorio de magnetometría del Departamento de Física de la Universidad Nacional de La Plata, con una frecuencia y amplitud de 82 Hz y 5 mm, respectivamente. Se midió a temperatura ambiente y sin vacío, variando el campo entre 1.9 T y -1.9 T. Las muestras en polvo fueron preparadas en la cámara de atmósfera controlada, y con masas alrededor de 20

mg en todos los casos. Para el caso de las muestras coloidales, fueron encapsuladas en fase líquida en un termocontraíble, y tenían un volumen aproximado de 50 μL en todos los casos.

Cabe resaltar que todos los resultados reportados se normalizaron por gramos de Fe en la muestra. Para el caso de los polvos recién salidos del molino, esta masa se calculó usando fórmula que describe la reacción (ver sección 3.1.1) y las masas pesadas de reactivos. Con estos datos, se encontró que la masa final de hierro fue de 20.5% de la totalidad de los polvos, y las de los otros productos fueron 28% (NaCl) y 51.5% (MgCl_2). En la etapa siguiente a la disolución de las sales, y posterior a la medida de DRX para descartar la presencia de fases indeseables, como se trataba de Fe puro, los resultados reportados se hicieron respecto de la masa pesada. Por último, para calcular la masa de Fe en el sistema coloidal, se pesó el termocontraíble sin muestra y el termocontraíble con muestra y sellado. Con esta masa y con la concentración nominal del coloide se pudo obtener la masa de hierro.

3.2.3 Difracción de rayos X (DRX)

Las medidas de DRX se hicieron como prueba de control en la segunda etapa, para verificar la disolución de las sales con agua miliQ y en polvos secos. El objetivo de esta caracterización era verificar la ausencia de fases indeseables y hacer una estimación del tamaño medio de los cristales de hierro metálico.

El equipo de DRX es un difractómetro X-Pert pro PANalytical 2θ del Departamento de Física de la Universidad Nacional de La Plata. Este equipo cuenta con una fuente de radiación de Cu ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$). Se midió en el rango $12^\circ - 80^\circ$ barriendo a una tasa de 5 segundos por paso, en pasos de 0.02° . El programa con el que se analizaron los datos fue el X'pert Highscore Pro y se tomó como referencia el patrón que se muestra en la Fig. 3.9. La cantidad de muestra varió entre los 10 mg y los 30 mg de Fe.

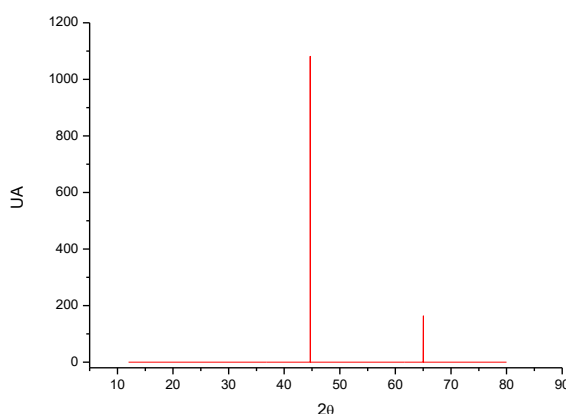


Fig. 3.9. Patrón Fe metálico.

El análisis del tamaño promedio de los cristales de hierro se hizo usando la fórmula de Scherrer (Ec. 3.5.), donde K es un factor de forma adimensional cuyo valor es del orden de 0.9 pero depende de la forma media de los cristales (en este caso se empleó $K = 0.94$), y B es el ancho de pico a la mitad de su altura.

$$D = \frac{K \cdot \lambda}{B \cdot \cos \theta} \text{ Ec. 3.5.}$$

Las reflexiones de asociadas a $2\theta = 44.67^\circ$ y $2\theta = 65.02^\circ$ corresponden a los planos (110) y (200), respectivamente [11]. La fórmula de Scherrer se aplicó a la reflexión de 44.67° por ser la más intensa.

3.2.4. Dispersión de rayos X a bajos ángulos (SAXS)

La ley de Bragg es la relación fundamental que describe la difracción de rayos X, ya sea tradicional o de bajos ángulos, debido a la estructura propia de un material. Dicha ley relaciona las distancias interplanares “d” con la posición el ángulo “ θ ” donde se presentan los máximos de interferencia para una onda electromagnética incidente de longitud de onda “ λ ”, determinada. Esto se resume en la siguiente expresión:

$$\lambda = 2d \sin \theta, \text{ Ec. 3.6.}$$

En las estructuras cristalinas, las distancias entre planos son del orden de la magnitud que tienen las longitudes de onda de las radiaciones usualmente empleadas, de esta forma, se espera que los ángulos de difracción sean del orden de las decenas de grados. Los detalles estructurales correspondientes a escalas mayores, como formas de nano-objetos o separaciones medias entre ellos, donde aparecen distancias típicas del orden de 1 a 10 nm, dan lugar a fenómenos de dispersión e interferencia que se manifiestan a bajos ángulos, para $\theta \leq 1.25^\circ$.

El estudio SAXS del sistema coloidal obtenido durante esta investigación se hizo en el Laboratorio Nacional de Luz Sincrotron (LNLS) en Campinas (Brasil). Las muestras fueron estudiadas en fase líquida en todos los casos. La Línea de SAXS2 en la que medimos tiene una energía de haz de 8 keV, $\lambda = 1.544 \text{ \AA}$, tamaño del spot de 2x2 mm, ventanas de mica grado V analítico y un detector pilatus 300K. La línea SAXS2 y el portamuestra usados se muestran en la siguiente figura.

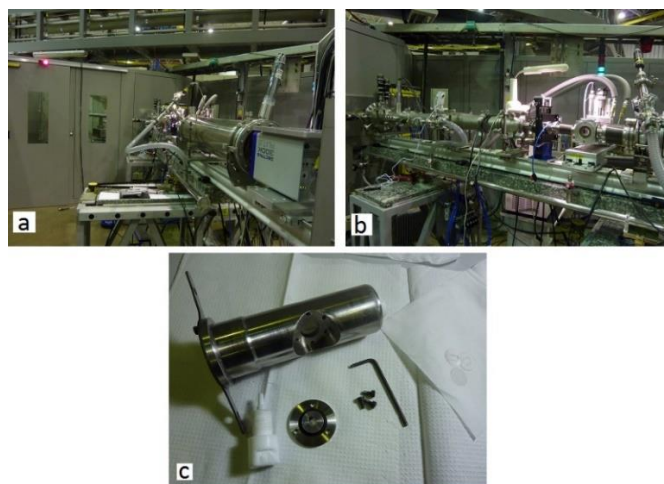


Fig. 3.10. Línea SAXS2 del Laboratorio Nacional de Luz Sincrotron (LNLS). a) Detector pilatus 300k y segmento final de la línea. b) Segmento inicial de la línea y portamuestras. c) Portamuestras usado.

El análisis de los datos se hizo usando el programa SAXSfit que es de uso libre.

3.2.4.1 Modelos de ajuste

Los modelos que se usaron para ajustar los espectros SAXS fueron el de Beaucage [12] y el de las esferas rígidas. Con los parámetros obtenidos de los ajustes se pretende obtener la distribución de tamaños de los coloides y su tamaño medio esperado para ser comparado con el obtenido con TEM.

El modelo de Beaucage permite medir la intensidad dispersada por un aglomerado de dimensión fractal d_f y radio de giro R_g , el cual está formado por partículas más chicas de radio R_s . El modelo considera la contribución del aglomerado y de las partículas más chicas mediante la ecuación:

$$I(q) = G \exp\left[\frac{-q^2 R_g^2}{3}\right] + B \exp\left[\frac{-q^2 R_s^2}{3}\right] \left(\frac{\left[\operatorname{erf}\left(\frac{q R_g}{\sqrt{6}}\right)\right]^3}{q}\right)^{d_f} + G_s \exp\left[\frac{-q^2 R_s^2}{2}\right] + B_s \left(\frac{\left[\operatorname{erf}\left(\frac{q R_s}{\sqrt{6}}\right)\right]^3}{q}\right)^P, \quad \text{Ec. 3.7.}$$

Donde los dos primeros términos corresponden a las contribuciones de Guinier y Porod de los aglomerados, y, los términos 3 y 4 corresponden a las contribuciones de Porod y Guinier de las partículas individuales, respectivamente. Por otro lado, G , B , G_s , B_s y q son factores de ajuste los cuales permiten obtener los parámetros m y σ de la distribución logNormal de los ajustes hechos de la siguiente manera:

$$\sigma = \left(\frac{\ln\left(\frac{B R_g^4}{1.62 G}\right)}{12}\right)^{0.5}, \quad \text{Ec. 3.8.}$$

$$x_c = \left(\frac{5 R_g^2}{3 e^{14 \sigma^2}}\right)^{0.5}, \quad \text{Ec. 3.9.}$$

Por último, con el modelo de las esferas rígidas se puede obtener la distribución LogNormal de tamaños con los parámetros x_c y σ que se obtienen del ajuste, la cual puede ser graficada con la siguiente ecuación:

$$y = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma x} e^{\left(\frac{-\ln^2(x/x_c)}{2\sigma^2}\right)}, \quad \text{Ec. 3.10.}$$

3.2.5 Dispositivo superconductor de interferencia cuántica (SQUID)

El magnetómetro SQUID modelo Quantum design MPMS-XL permite variar el campo magnético entre 7 T y -7 T, y tiene un rango de temperatura de trabajo entre los 2 y 400 K. Dicho equipo pertenece a la Red Nacional De Magnetismo y Materiales Magnéticos y está alojado en el Laboratorio de Bajas Temperaturas del Departamento de Física de la Universidad de Buenos Aires. En él se pueden realizar medidas de magnetización en función del campo, el tiempo y la temperatura, entre ellas las que se

obtienen usando los protocolos conocidos como Zero Field Cooling (ZFC) y Field Cooling (FC). En este equipo se midieron las muestras coloidales.

Para el caso de muestras en polvo, se usó el equipo del Instituto de Ciencia de Materiales de Barcelona (ICMAB), a través de una colaboración con la Dra. Anna Roig. El equipo es un modelo Quantum design MPMS-XL, cuyo rango de campo varía entre 7 T y -7 T, y, tiene un rango de temperatura de trabajo entre los 2 y 400 K.

El procedimiento para hacer una medida ZFC consiste en llevar la muestra hasta 5K con campo cero. En este caso, se espera que los ejes de anisotropía, así como los momentos magnéticos se encuentren distribuidos de manera aleatoria. Después se aplica un campo magnético pequeño y constante (en nuestro caso en el rango de 50 - 100 Oe), para luego ir aumentando la temperatura con una rampa de 5 K/min hasta 240 K cuando se trata de coloides y hasta 300 K si se miden muestras en polvo. En la medida FC, se lleva la muestra desde la temperatura final del ZFC hasta 5K, en presencia del mismo campo magnético. Generalmente se usa la misma rampa usada en el ZFC.

Las curvas típicas de una medida ZFC-FC se presentan en la Fig. 3.10. La dispersión de tamaños resulta en una dispersión de temperaturas de bloqueo. También se observa que la curva de ZFC presenta un máximo, a una temperatura denominada T_{max} . La temperatura a partir de la cual las curvas ZFC y FC coinciden se denomina punto de irreversibilidad (T_{irr}) y es el correspondiente a la máxima temperatura de bloqueo de las partículas del sistema. A partir del mismo el sistema responde como un superparamagnetos. A partir de T_{irr} la magnetización disminuiría según la Ley de Curie (como $1/T$). Sin embargo, hay varias causas que apartan la respuesta del sistema respecto de la dependencia $1/T$, entre ellas la variación de la magnetización espontánea $M_s(T)$ con la temperatura, la dispersión de tamaños, y las interacciones entre NPs.

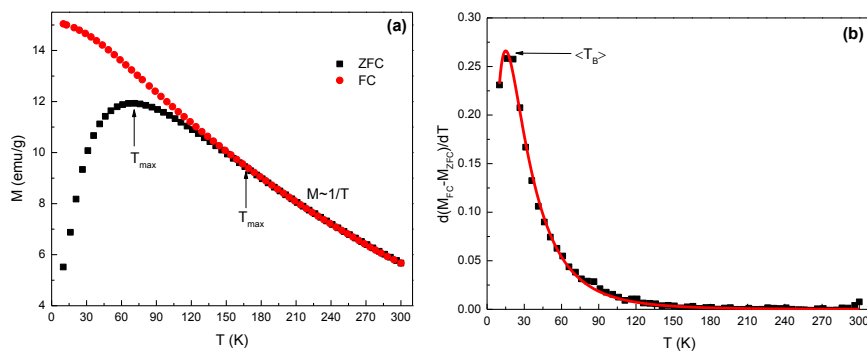


Fig. 3.11. (a) Resultado típico de un procedimiento ZFC-FC obtenido con un SQUID. **(b)** Determinación de la temperatura de bloqueo media utilizando los protocolos ZFC y FC. Tomado de Ref. 13.

La temperatura de bloqueo media ($\langle T_B \rangle$) se determina realizando la diferencia entre las curvas FC y ZFC, y haciendo la derivada respecto a la temperatura, de esta forma se obtiene una función de distribución de temperaturas de bloqueo, donde $\langle T_B \rangle$ se puede determinar a partir del ajuste con una función de distribución apropiada [14].

Las muestras coloidales, fueron encapsuladas en un termocontraíble transparente con un volumen aproximado de 50 μL (Fig. 3.12). Las muestras medidas después de la separación magnética (capítulo 4) se midieron tanto en forma de coloides como secas, en forma de polvo o absorbiendo el coloide en un pequeño trozo de algodón. La masa del nanomaterial seco fue del orden de los 50 μg .

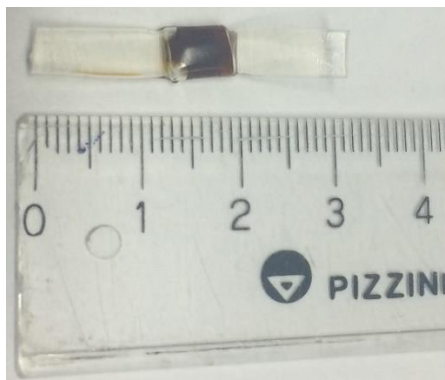


Fig. 3.12. Muestra encapsulada para medidas en el VSM.

3.2.6. Potencial Z

Las medidas de potencial Z permiten verificar la estabilización electrostática del sistema coloidal. La carga superficial va a depender del surfactante cuya presencia es de vital importancia para la estabilidad del sistema.

El potencial Z es modelado como un sistema de doble capa, en él se representa un ion altamente cargado (positiva o negativamente) que hace que se genere un exceso de contraiones en las cercanías de dicho ion (Fig. 3.13). Al generarse esta capa, conocida como de Stern [15], se generan fuerzas eléctricas de repulsión.

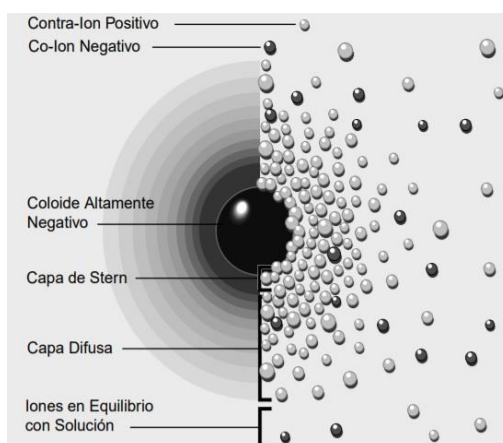


Fig. 3.13. Modelo del potencial Z. Tomado de Ref. 15.

Esta caracterización se hizo en dos equipos. El primero, es un modelo Zeta Potential Analyser 90 Plus/Bi-MAS (Brookhaven Instruments Corporation) con una constante de fuerza iónica de 10^{-3} M KCl del Centro de Tecnología de recursos Minerales y Cerámica (CETMIC) en La Plata – Argentina. Las medidas se tomaron con 20 μL de la muestra y diluyendo en aproximadamente 100 mL de agua en agitación constante. Para alcanzar los pH altos se usó KOH y para pH bajos FeSO_4 . El procedimiento consistió en medir el

pH, sacar una alícuota del total de muestra, y registrar el potencial encontrado. La muestra medida se devolvía al recipiente principal, se le agregaba la base o el ácido, según correspondiese, y se sacaba nuevamente una alícuota para ser medida. El segundo, es un modelo Zetasizer Nano ZS de Malvern Instruments. El rango de tamaños que se puede medir es de 0.6 nm a 6 μm , el volumen de la muestra de trabajo debe estar en el rango de 150 μL – 750 μL y se midió el potencial Z de los coloides.

3.2.7 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

La microscopía electrónica de transmisión (TEM), se utilizó para determinar el tamaño y distribución de las NPM. Las imágenes obtenidas en el TEM JEM3010 fueron adquiridas en colaboración en el Laboratorio Nacional de Nanotecnología (LNNano) en Campinas-Brasil (Fig. 3.14).

Este microscopio permite observar NPM en conjunto o una solas, y en el modo de alta resolución (HR-TEM), es posible identificar los planos cristalinos de las NPs y así determinar su composición. Cuenta con un filamento de LaB₆ y un potencial acelerador de los electrones de 300 kV y una resolución de punto de 0.17 nm.



Fig. 3.14. Fotografía del microscopio electrónico de transmisión. (a) HR-TEMJEOL 3010 del LNNano. (b) Portamuestras criogénico para medir muestras biológicas del HR-TEMJEOL 3010 del LNNano.

También se usó el modelo 120 KV Jeol 1210, en colaboración, perteneciente al Instituto de Ciencia de Materiales de Barcelona (ICMAB).

El análisis de imágenes se hizo con el programa Image J sobre cada uno de los coloides estabilizados, tomando los diámetros mayor y menor de cada NPM, dichos valores luego fueron promediados. Esta estrategia se implementó debido a que las partículas obtenidas por mecanosíntesis tienden a tener una forma alargada. Después de haber promediado y contado un mínimo de 170 partículas, se hizo un ajuste mediante la función LogNormal, con la que se encontró la desviación estándar y el valor medio de la distribución de tamaños (Ec. 3.11. y Ec. 3.12., respectivamente).

$$SD = x_c e^{\frac{\sigma^2}{2}} * \sqrt{e^{\frac{\sigma^2}{2}} - 1}, \text{ Ec. 3.11.}$$

$$< x > = x_c e^{\frac{\sigma^2}{2}}, \text{ Ec. 3.12.}$$

Siendo X_c el valor de la mediana y σ un valor de ajuste de la distribución.

3.2.8 Difracción de electrones (DE)

La difracción de electrones frecuentemente disponible en dispositivos TEM es una técnica que permite identificar fases en regiones reducidas, incluso de tamaño nanométrico. El objetivo principal de esta técnica fue la identificación del recubrimiento de Fe_3O_4 , el cual no había podido identificarse de manera certera por ninguna de las caracterizaciones anteriores. Para ello se usó el modelo 120 KV Jeol 1210, perteneciente al Instituto de Ciencia de Materiales de Barcelona (ICMAB). El cual tiene un potencial acelerador de 120 kV y tiene una resolución de 3.2 Å.

Tabla 3.1 ángulos y distancias interplanares para el Fe y Fe_3O_4 [11, 16]

Hierro		Magnetita	
2θ	d (Å)	2θ	d (Å)
44.671	2.026	35.765	2.508
65.018	1.433	63.166	1.471
82.329	1.170	30.362	2.942
		57.512	1.601
		43.473	2.080

El análisis de los datos se hizo con MatLAB y usando como referencia las distancias interplanares de las principales reflexiones del hierro y la magnetita (en intensidad de mayor a menor), las cuales se detallan en la tabla 3.1.

3.2.9. Dispersión dinámica de luz (DLS)

La dispersión dinámica de luz (DLS, por sus siglas en inglés) es una técnica empleada para la determinación de la distribución de tamaños de partículas en sistemas coloidales, así como, macromoléculas en solución como proteínas o polímeros. La medida del tamaño hidrodinámico es de vital importancia, ya que con esta caracterización se puede obtener el tiempo de relajación de Brown. Además, da pistas de la estabilidad del coloide, ya que permite identificar la formación de aglomerados.

El movimiento Browniano de las moléculas en suspensión modifica la intensidad de la dispersión de la luz de un láser en diferentes direcciones. Al analizar las fluctuaciones de dicha intensidad, se puede conocer la velocidad del movimiento browniano, y, por tanto, el tamaño hidrodinámico (D_H) de las partículas que componen el sistema estudiado. Todo esto por medio de la aplicación de la ecuación de Stokes-Einstein [17]:

$$D_H = \frac{k_B T}{3\pi\eta D_f}, \text{ Ec. 3.13.}$$

Siendo η la viscosidad del medio usado y D_f la constante de difusión de la partícula.

El equipo utilizado fue el modelo Nanosight NS300 de malvern instruments, perteneciente al Instituto de Ciencia de Materiales de Barcelona (ICMAB). Este equipo permite trabajar con longitudes de onda del violeta (405 nm), azul (488 nm), verde (532 nm) y rojo (642 nm). Tiene un control de temperatura que puede variar entre los 5 y 55 °C. Además, en él se pueden medir partículas en el rango de 10 nm – 2000 nm en concentraciones entre 10^6 y 10^9 partículas por mL.

El análisis de los datos se hizo con el software de malvern instruments que es suministrado por el fabricante del equipo.

3.2.10 Velocidad específica de absorción (SAR)

Un volumen de 400 μ L del sistema Fe/Fe₃O₄@CitNa se sitúa dentro de un *dewar* de vidrio. Este diseño dificulta el intercambio de calor entre el coloide y el medio circundante (Fig. 3.15., derecha). Cuando se aplica un campo magnético RF, se produce un cambio en la temperatura del coloide el cual es monitoreado con una sonda transductora adherida a una fibra óptica marca Neoptics, la cual permite medir la temperatura con una sensibilidad de $\pm 0.1^\circ\text{C}$.



Fig. 3.15. Equipo utilizado (Izquierda), y, montaje del sistema coloidal (derecha) con la sonda que permite medir la temperatura en tiempo real. Tomado Ref. 13.

Las medidas de SAR se hicieron con el equipo con el que cuenta nuestro grupo de investigación (Fig. 3.15). El mismo es marca Hüttinger (2.5/300) y tiene un rango trabajo entre 0 y 15.2 A con una sensibilidad de 0.1 A. Cuenta con una fuente de corriente A.C con una potencia máxima de 2 kW que alimenta un circuito RLC el cual contiene la bobina de trabajo. La corriente que circula por la bobina de trabajo permite aplicar campos magnéticos de radiofrecuencia (RF) de hasta aproximadamente 800 Oe. La frecuencia de trabajo se controla variando el valor de la capacitancia y la inductancia del circuito RLC. La bobina externa empleada es de 5 espiras, tiene un diámetro interno de 25 mm y una altura de 37 mm. La frecuencia del campo magnético a.c se puede fijar en valores entre 45 y 267 kHz. La muestra a estudiar se sitúa en el centro geométrico de esta bobina (Fig. 3.15., derecha).

Cuando el sistema coloidal se somete a un campo magnético RF, se absorbe energía del mismo transformándola en energía interna. Esto en condiciones adiabáticas supone un aumento de la temperatura. La relación entre la potencia “P” entregada al coloide y la variación de la temperatura “ΔT” en un intervalo de tiempo “Δt” está dada por la siguiente ecuación:

$$P = mc \frac{\Delta T}{\Delta t}, \text{ Ec. 3.14.}$$

donde m es la masa de coloide y c su calor específico. La masa se puede colocar en términos de la densidad del coloide y su concentración (ρ y [x], respectivamente). La concentración se define como la masa de material con respuesta magnética por unidad de volumen. Al reescribir la Ec. 3.10 se puede definir la potencia específica (P_m) por unidad de masa como:

$$P_m = \frac{\rho c}{[x]} \frac{\Delta T}{\Delta t}, \text{ Ec. 3.15.}$$

En el SI, la potencia específica se define como en la Ec. 3.15., y tiene unidades de W/kg y define la medida calorimétrica del SAR. En la literatura es frecuente encontrar el SAR expresado en unidades mixtas de W/g.

$$SAR = \frac{\rho c}{[x]} \frac{\Delta T}{\Delta t}, \text{ Ec. 3.16.}$$

En la Fig. 3.16, se presenta un ejemplo de calentamiento de una muestra medida con una frecuencia f = 256 kHz y una amplitud de campo H₀ = 52.4 kA/m.

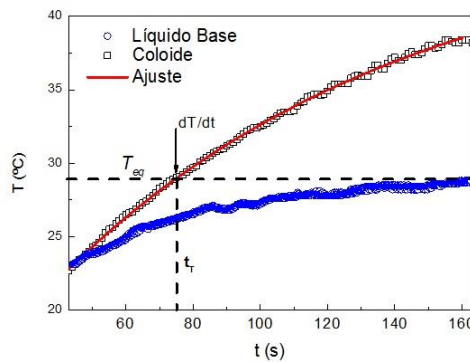


Fig. 3.16. Curvas de calentamiento de una suspensión coloidal magnéticas y de su fase dispersante (agua). La medida se hizo con el equipo anteriormente descrito. En los círculos azules se tiene la medida del líquido base (agua), en los cuadrados los puntos experimentales del coloide y la línea roja es el ajuste sobre los puntos experimentales del coloide. Tomado de Ref. 13.

Para determinar ΔT/Δt, se mide primero la fase dispersante (en nuestro caso todas las suspensiones se hicieron en agua). Esto se hace en las mismas condiciones de campo y frecuencia a las cuales se medirá el sistema coloidal y hasta alcanzar la temperatura de equilibrio (T_{eq}). Posteriormente, se mide el aumento de temperatura de la suspensión coloidal en función del tiempo, y se ajusta la zona lineal de la curva para obtener el ΔT/Δt de la muestra, dicho valor es reemplazado en la Ec. 3.5, y junto con los valores de la concentración del coloide y el calor específico del agua se puede obtener el valor

del SAR de la muestra estudiada. Este análisis se hizo de igual manera en todos los coloides medidos durante esta tesis.

3.3. SEPARACIÓN MAGNÉTICA

Debido a la gran polidispersidad propia del proceso de mecano-síntesis, se hizo necesario plantear un experimento que permitiera obtener tamaños de partícula más acotados. Por esa razón se diseñó un prototipo (Fig. 3.16) que permitiera separar el coloide en distintas clases con distribuciones de tamaño más acotadas. Esta necesidad surgió a partir de los resultados de ZFC-FC que se analizarán en el capítulo 4.

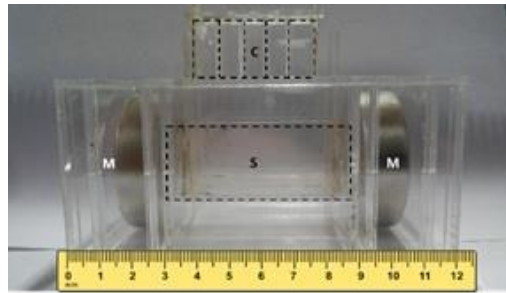


Fig. 3.17. Prototipo diseñado. (m) Imanes. (s) Cubeta. (c) Cubeta con separaciones.

El prototipo consta de 2 partes: la primera, es una caja que sirve como colectora de todas las partes del sistema y tiene dimensiones 12x7x7 cm. Consta de dos compartimentos donde se colocan los imanes y un compartimento donde se inserta la cubeta (s) en la cual se va a verter el coloide. La segunda es un recipiente compartimentado (c) que se inserta en (s) el cual impide que las fracciones separadas después de aplicar un campo magnético por un tiempo t vuelvan a mezclarse, y permite almacenarlas temporariamente hasta su envasado final. Las dimensiones de la cubeta (s) son 5x2x2 cm y está centrada respecto del eje z de los imanes los cuales están colocados en una configuración atractiva.

Este experimento se diseñó a partir teniendo en cuenta que la fuerza ejercida por un campo \mathbf{B} sobre el momento $\boldsymbol{\mu}$ de una NP viene dada por:

$$F_m = (\boldsymbol{\mu} \cdot \nabla) \mathbf{B}, \text{ Ec. 3.17}$$

La proporcionalidad con $\boldsymbol{\mu}$ conduce a una fuerza mayor sobre NPs mayores, por lo que se produce una separación por tamaños donde las partículas más grandes quedan más próximas a los imanes generadores de campo. Para simplificar el análisis posterior se diseñó un sistema en el que el campo posee simetría cilíndrica. La redistribución de NPs durante el procedimiento puede estudiarse en base al trabajo reportado por Furlani et. al. [18], en el cual modeló el campo magnético de un imán cilíndrico mediante la siguiente ecuación.

$$H_{az} = \frac{M_s}{2} \left(\frac{z+L_m}{\sqrt{(z+L_m)^2 + R_m^2}} - \frac{z}{\sqrt{z^2 + R_m^2}} \right), \text{ Ec. 3.18.}$$

Donde z es la distancia medida a partir de la superficie del imán, y L_m y R_m son el ancho y radio del imán, o empleando la estrategia presentada en [19] que simula el campo de un imán cilíndrico mediante el producido por un conjunto de bobinas equiespaciadas, iguales y paralelas:

$$B_z(\rho, z) = \sum_{k=0}^{N-1} \frac{\mu_0 i a}{2\pi(2a\rho)^{3/2}} \left(\frac{am\sqrt{2m}E(m)}{2-2m} + \rho\sqrt{2m}K(m) - \frac{\rho(2-m)\sqrt{2m}E(m)}{2-2m} \right), \text{ Ec. 3.19.}$$

$$B_\rho = \frac{\mu_0 i}{2a\pi\sqrt{\left(1-\frac{d}{a}\right)^2 + \left(\frac{\rho}{a}\right)^2}} \left[E(m) \frac{1 - \left(\frac{d^2 + \rho^2}{a^2}\right)}{\left(1-\frac{d}{a}\right)^2 + \left(\frac{\rho}{a}\right)^2 - \frac{4d}{a}} + K(m) \right], \text{ Ec. 3.20.}$$

Estas expresiones permiten obtener las componentes B_z y B_ρ en todo el espacio ajustando un número discreto de valores axiales y radiales de \mathbf{B} en la vecindad de cada imán. Las funciones K y E son las integrales elípticas de primera y segunda especie:

$$K(m) = \int_0^{\pi/2} \frac{d\vartheta}{\sqrt{1 - m * \text{sen}^2(\vartheta)}}, E(m) = \int_0^{\pi/2} \sqrt{1 - m * \text{sen}^2(\vartheta)} d\vartheta$$

Donde m es:

$$m = \frac{4a\rho}{2a\rho + (z+kd)^2 + a^2 + \rho^2}, \text{ Ec. 3.21.}$$

Los parámetros que aparecen en las expresiones se describen en la tabla siguiente:

Tabla 3.2. Parámetros para modelar B_z y B_ρ .

Parámetro
Número de espiras N
Corriente i [A]
Radio a [m]
Separación d [m]

Los cuales se obtienen por ajuste de la expresión teórica a los datos experimentales.

La imagen de la Fig. 3.18 ilustra el resultado de un experimento de separación. Como se puede apreciar también ocurre un efecto de aumento de concentración de NPs en las regiones próximas a los aplicadores de campo.



Fig. 3.18. Suspensión coloidal separada después de aplicar un campo magnético por un tiempo determinado.

El experimento consistió en verter 10 cm³ de coloide en la cubeta (s), la cual se coloca en el compartimento de la caja colectora en el instante t=0, a un tiempo t posterior (algunos minutos) se inserta (c) en (s), se giran ambas cajas y se extrae (s). Seguidamente mediante una micropipeta se almacenan las fracciones separadas en los recipientes definitivos.

Como se observa en la figura anterior, la fracción de coloide que está en el centro es la más clara lo que indica una menor presencia de partículas, mientras que las de los extremos de la caja separadora son más oscuras. Se debe mencionar también que debido a que no hay un sellamiento perfecto entre la caja separadora y la cubeta que almacena el coloide a separar, se pierde un poco de coloide por la interfaz de dichas cajas, sin embargo, ese coloide fue colectado en una caja de Petri y es el que tiene la mayor concentración de partículas en todas clases obtenidas y también las partículas más grandes. A las muestras separadas se les hicieron estudios en el VSM y ciclos ZFC-FC en el SQUID, principalmente. Los resultados obtenidos se discutirán en el capítulo 4.

3.4 PRUEBAS DE VIABILIDAD CELULAR

La sal de tetrazolio, mejor conocida como MTT (3-(4,5 dimetil tiazolil-2)-2, 5-difeniltetrazolio bromuro), es ampliamente utilizada en ensayos *in vitro* como una medida indirecta de la viabilidad celular. Este procedimiento es usado cuando es necesario hacer estudios básicos de sistemas magnéticos, por ejemplo, que tienen unas potenciales aplicaciones en sistemas biológicos. Se trata de un ensayo colorimétrico realizado para valorar la actividad metabólica celular. Las enzimas oxido-reductasas, presentes en las mitocondrias, son capaces de reducir la sal de tetrazolio (amarilla) a su forma insoluble, formazán, que se torna de color púrpura. Se utiliza una solución de solubilización para disolver el formazán y obtener una solución coloreada que puede ser medida por un espectrofotómetro a cierta longitud de onda (usualmente entre 500 y 600 nm) [20].

El protocolo seguido se hizo en el Instituto de Química y Fisicoquímica Biológicas (IQUIFIB) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires merced a una colaboración entre las Dras. Marcela Fernández van Raap y Patricia Setton. Los materiales usados fueron:

1. Línea celular de melanoma murino B16.
2. MTT (Sigma No de catálogo M5655-1G), solución stock 5 mg/mL.
3. Solución de solubilización: isopropanol-HCl 0.04 N.
4. Lector de microplacas Amersham Bio-Sciences Biotrak II.
5. Placas de multiwell de 96 pocillos.
6. Medio de cultivo RPMI Sigma R4130.
7. Suero fetal bovino (de ahora en más SFB) Serendipia lab Argentina, lote 0006/18.
8. Sistemas coloidales Fe9HP01, Fe9HP01_clean* y Fe6HP02.

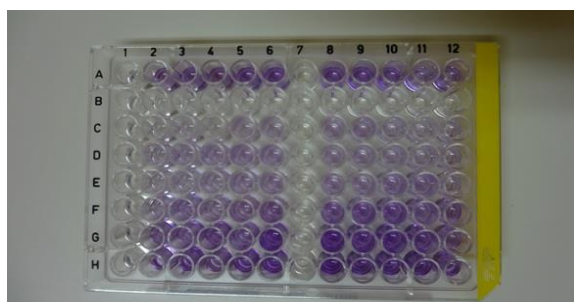
*Para el caso de la muestra Fe9HP01_clean, se diferencia de la muestra madre Fe9HP01 en que esta se le hizo un lavado con acetona en relación 1:2 respecto de la

El procedimiento consistió en:

- +

[illegible]

2. Agregar 100 μL de medio suplementado con 10% SFB, exceptuando aquellos pocillos donde queremos medir la absorbancia sólo del plástico.
3. Pasadas las 24 horas de crecimiento, agregar los coloides en la concentración deseada, cada uno por triplicado. Dejar incubar por 17 horas.
4. Pasado el tiempo de incubación, lavar todos los pocillos con PBS 1X a pH 7.4 por 3-5 veces.
5. Volver a agregar, a todos los pocillos, medio fresco junto con 10 μL de solución stock de MTT.
6. Colocar la placa en la estufa de cultivo y dejar incubando 2 horas aproximadamente, o hasta que se empiecen a observar cristales de color violeta (Fig. 3.19).
7. Una vez observados los cristales dar vuelta a la placa para descartar el medio, agregar, en todos los pocillos, 100 μL de la solución solubilización isopropanol-HCl 0.04 N. Dejar incubando 15-30 minutos a 37°C y luego homogeneizar.
8. Medir la absorbancia con el lector de microplacas Amersham Bio-Sciences Biotrak II, a una longitud de onda de 595 nm.



68

El análisis de los datos se realiza representando los datos como la desviación estándar (\pm DE) de la absorbancia, o la media de las repeticiones relativizado al control.

Después de hacer las pruebas de viabilidad celular con MTT, se hizo una internalización del sistema coloidal en células de melanoma murino de la línea celular B16. Para ello se llevó el coloide a una concentración de 116 μ g/mL y se puso en contacto con el cultivo celular durante 22 h y en presencia de medio de cultivo, antibiótico y 10% de suero fetal bovino. Pasadas las 22 h de incubación se descarta el medio que contiene las células y se hacen 5 lavados con PBS 1X a 37 °C, el primer lavado dura entre 15 – 20 min, y los restantes 5 min aproximadamente. Una vez hechos los 5 lavados con PBS 1X, se agrega al flask HBSS 1X y Tripsina al 0.5% y se lleva a estufa a 37°C durante 2 minutos para despegar las células del flask. Pasados los 2 minutos se inactiva la tripsina con DMEM + 10% SFB, se vierte el contenido del flask a tubos de 15 mL y se centrifuga durante 10 minutos a 100 g. Se retira el sobrenadante y se resuspende el pellet obtenido en PFA %-PBS 1X para fijar las células durante 20 min a una temperatura de 4°C. Pasado este tiempo se centrifuga nuevamente por 10 s a 100 g, y se hacen 2 lavados más con PBS 1X. Después se resuspende el pellet obtenido en 60 μ L de PBS 1X (se sacan 10 μ L de esto para contar las células en cámara de Neubauer) y se toman los 50 μ L restantes para encapsular en el termocontraíble en el que se va a hacer la medida de M vs H en el VSM con el fin de cuantificar la masa de NPM internalizadas por cada célula (Fig. 4.55).

Finalmente, para hacer las observaciones en el TEM de las células que han sido internalizadas con el sistema coloidal, se sigue el procedimiento recomendado por el servicio técnico encargado de este tipo de medidas [21], el cual se detalla a continuación.

1. Retirar el medio de cultivo, con mucho cuidado, empleando una pipeta.
2. Colocar sobre la monocapa celular, glutaraldehído al 2% preparado en buffer. El volumen de solución fijadora a utilizar dependerá de la superficie de cultivo, como referencia, para una caja de Petri plástica pequeña se emplean 2 ml.
3. Dejar a 4 °C durante 2 h (temperatura y tiempo de fijación para MET), si hay buena concentración celular podrá ver que la solución fijadora se vuelve levemente turbia (menos translúcida), la monocapa se levanta. También se puede ayudar mecánicamente empleando una espátula.
4. Extraer con una pipeta, toda la solución fijadora con las células (suspensión celular) y colocar en un tubo eppendorf de 2 mL.
5. Realizar la concentración celular, formar el pellet.

Después de formado el pellet se hace un tratamiento con resinas para obtener un material sólido. A este se le realizan cortes semifinos de 2 micrones de espesor, posteriormente, son observados con un microscopio óptico para seleccionar los más adecuados. Una vez seleccionada una muestra de 2 micrones, esta es sometida a cortes ultrafinos de 60 nm para poder ser observados en el TEM. Después de este procedimiento se puede hacer la observación de las células internalizadas con el sistema coloidal y la fijación de las NPM en los endosomas como se verá en la sección 4.3.9.

3.5 REFERENCIAS

- [1] T. Tsuzuki, P. G. McCormick. "Mechanochemical synthesis of nanoparticles". Journal of Materials Science. Volume 39. Págs: 5143 – 5146. 2004.
- [2] J. Ding, W. F. Miao, P. G. McCormick, R. Street. "Mechanochemical synthesis of ultrafine Fe powder". Applied Physics Letters. Volume 67. 1995.
- [3] P. G. McCormick, T. Tsuzuki, J. S. Robinson, J. Ding. "Nanopowders Synthesized by mechanochemical Processing". Advanced Materials. Volume 13. 2001.
- [4] Y. Todaka, P. G. McCormick, K. Tsouchiya, M. Umemoto. "Synthesis of Fe-Cu nanoparticles by mechanochemical processing using ball milling". Material Transactions. Volume 43. Págs: 667 – 673. 2002.
- [5] H. Markides, M. Rotherham, A. J. ElHaj. "Biocompatibility and Toxicity of Magnetic Nanoparticles in Regenerative Medicine". Journal of Nanomaterials. Vol: 2012. Págs. 11. 2012.
- [6] S. E. Jacobo, P. G. Bercoff, C. A. Herme, L. A. Vives. "Sr hexaferrite/Ni ferrite nanocomposites: Magnetic behavior and microwave absorbing properties in the X-band". Materials Chemistry and Physics. Volume 157. Págs: 124 – 129. 2015.
- [7] M. E. de Sousa, M. B. Fernández van Raap, P. C. Rivas, P. Mendoza Zélis, P. Girardin, G. A. Pasquevich, J. L. Alessandrini, D. Muraca, F. H. Sánchez. "Stability and Relaxation Mechanisms of Citric Acid Coated Magnetite Nanoparticles for Magnetic Hyperthermia". J. Phys. Chem. C. Vol. 117. 5436–5445. 2013.
- [8] M. E. L. de Sousa. "Nanopartículas magnéticas para hipertermia intracelular: sensibilidad de células A549". Tesis doctoral. 2014.
- [9] https://es.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido_c%C3%ADtrico 21 de junio de 2017.
- [10] Comunicación privada gentileza del Quim. Pablo Tancredi. Estudiante doctoral de la Universidad de Buenos Aires.
- [11] Ficha cristalográfica del hierro.
- [12] G. Beaucage, H. K. Kammler, S. e. Pratsinis. "Particle sizes distributions from small-angle scattering using global scattering functions". J. Applied. Cryst. Vol. 37. 523-535. 2004.
- [13] D. F. Coral. "Estructuras Dipolares Magnéticas en Suspensiones Magnéticas Coloidales y su Influencia en Hipertermia Magnética". Tesis doctoral. 2015.
- [14] J. S. Michaa, B. Dienyb, J.R. Régnard, J.F. Jacquotd, J. Sort. "Estimation of the Co nanoparticles size by magnetic measurements in Co/SiO₂ discontinuous multilayers". Journal of Magnetism and Magnetic Materials. 272–276. 2004.
- [15] J. Batalla Moral, A. Cuadros Moreno, E. San Martín – Martinez. "Potencial Z en la determinación de carga superficial de liposomas". Lat. Am. J. Phys. Educ. Vol. 8. No. 4. 2014.
- [16] Ficha cristalográfica de la magnetita.
- [17] W.I. Goldberg. "Dynamic Light Scattering". American Journal of Physics. Vol. 67. 1152. 1999.
- [18] E. P. Furlani, K. C. Ng. "Nanoscale magnetic biotransport with application of magnetofection". Physical review E. Vol. 77. 061914. 2008.
- [19] M. L. Arciniegas Vaca. "Estudio de la respuesta magnética de nanopartículas en hidrogeles y en coloides. Efecto desmagnetizante debido a las interacciones dipolares magnéticas entre nanopartículas. Fuerza magnética y transporte de MNPs y adenovirus durante la magnetofección *in vitro*". Tesis doctoral. 2016.

- [20] T. Mosmann. "Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival. application to proliferation and cytotoxicity assays". Journal of immunological methods. Vol. 65. 55-63. 1983.
- [21] Guía para la obtención de un cultivo celular en monocapa y glutaraldehído. Servicio central de microscopía electrónica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata. 2017.

*“El éxito no es definitivo, el fracaso no es fatídico
Lo que cuenta es el valor para continuar”.*
Winston Churchill (1864 - 1965)

Capítulo 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se presentan los principales resultados obtenidos durante el desarrollo de esta tesis y su discusión. Se pretendió cumplir con 3 objetivos principales:

- Obtener partículas de hierro de tamaño nanométrico.
- Escalar el proceso para obtener la mayor cantidad posible con el molino Pulverisette 7 y la capacidad que tienen sus reactores.
- Obtener el sistema coloidal Fe/Fe₃O₄@CitNa estabilizado para posibles aplicaciones biomédicas.

Los resultados obtenidos se presentan en las siguientes secciones.

4.1 OBTENCIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS DE HIERRO: molino oscilatorio Retsch 2000

El primer objetivo de esta tesis doctoral era obtener nanopartículas de Fe en tamaño nanométrico. Para ello se plantearon distintos experimentos que permitieran la optimizar el procedimiento de molienda. Como se detalló en la sección anterior, se modificó el procedimiento desarrollado por McCormick et. al. [1-4], al reemplazar el Na por Mg, obteniéndose la reacción:

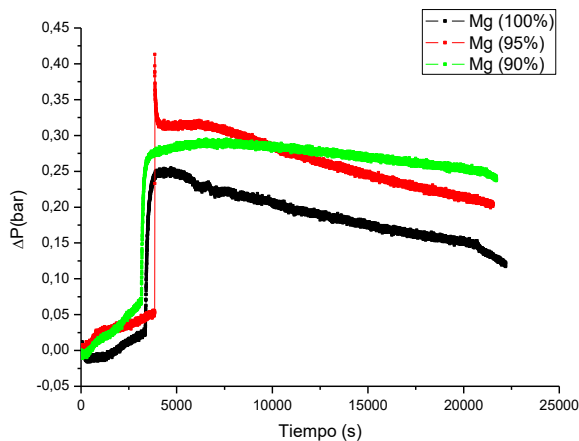


Fig. 4.1. Seguimiento de presión en la molienda con NaCl.

El primer experimento que se planteó iba en la dirección de asegurarse de que no quedaran restos de Mg sin reaccionar, lo que supondría una contaminación de las NPs de Fe finales. Con ese objetivo, se plantearon experimentos variando el porcentaje de Mg, apartándose del estequiométrico, y usando NaCl como dispersante. Los porcentajes de Mg usados fueron: 100%, 95% y 90% de la estequiometría ideal.

En la Fig. 4.1., pueden observarse 3 zonas temporales. En la primera parte, hasta 4000 segundos aproximadamente, se nota un crecimiento en la presión que se debe principalmente al aumento de la temperatura por el impacto y fricción de las esferas

de acero sobre los reactivos y las paredes del reactor. En la segunda, de aproximadamente 350 s de duración, se nota un aumento pronunciado de la presión el cual se le asocia al inicio de la reacción explosiva reportada por McCormick et. al. en los trabajos ya reseñados. En esta etapa el Mg captura los cloros del FeCl_3 para formar la sal de MgCl_2 , y creando nanopartículas de Fe metálico. En la tercera zona, la presión empieza a reducirse de manera paulatina, en parte por el enfriado del reactor. Sin embargo, la reducción de la presión es mucho más lenta que su crecimiento previo, indicando que la reacción continúa de manera no explosiva durante un período de tiempo de algunas horas. Como se mencionó en la sección 3.1.1, el tiempo total de molienda fue de 6 horas para todos los casos, este tiempo se tomó como referencia en base a la experiencia obtenida con el modelo Retsch 2000.

También se hizo un cálculo del ΔT durante la molienda, para ello se tomaron los parámetros y condiciones iniciales del sistema, como son: volumen del reactor y el tramo de conducto asociado a la línea de vacío/argón, temperatura ambiente, presión inicial y ΔP para cada uno de los casos. Esto se puede observar a continuación:

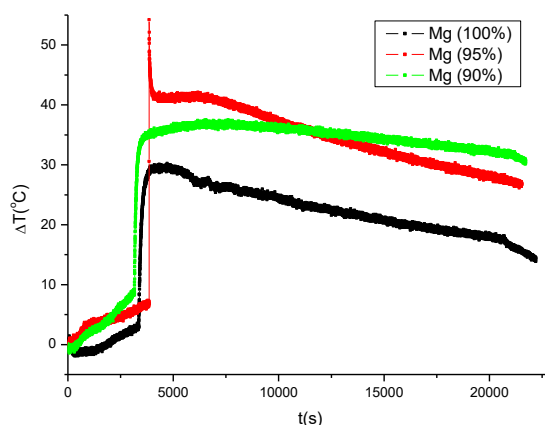


Fig. 4.2. Cálculo del ΔT durante el procedimiento de molienda.

Como se nota en la figura anterior, el incremento máximo de temperatura ΔT_{\max} está alrededor de los 33°C para la reacción con Mg 90% y 100%, y de 55°C para el caso del 95%. El aumento en la temperatura se le puede atribuir a que es una reacción explosiva y a la energía convertida en calor debido al impacto-rozamiento de las esferas de acero sobre el reactor.

Después de haber verificado la reacción explosiva se pasó a la etapa de caracterización de los polvos obtenidos durante el proceso de molienda, para ello se hicieron pruebas de control con: espectroscopia Mössbauer, difracción de rayos X y magnetometría de muestra vibrante.

4.1.1 Espectroscopia Mössbauer (EM)

La espectroscopia Mössbauer (EM) se usó, en la primera etapa, como una prueba de control para verificar la obtención de las NPs de Fe y descartar la presencia de óxidos y otros compuestos de hierro. En la siguiente figura se muestran los resultados de las distintas moliendas planteadas.

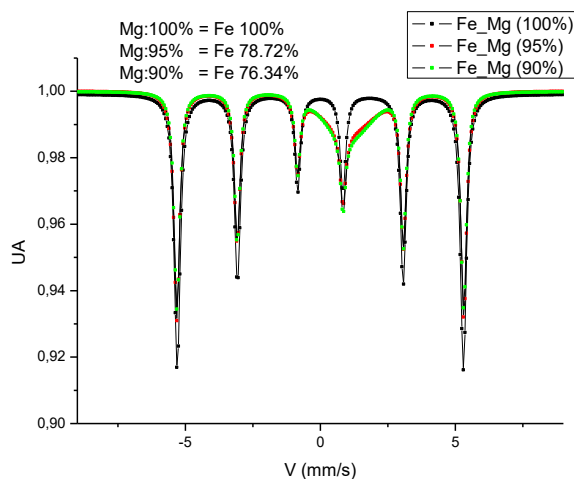


Fig. 4.3. Espectros Mössbauer ajustados para la sal de NaCl. El valor de campo hiperfino fue: Mg 100%: 5.309 ± 0.002 mm/s, Mg 95%: 5.319 ± 0.002 mm/s, Mg 90%: $5.308 \pm 9 \times 10^{-4}$ mm/s.

El porcentaje de Fe que se muestra en la figura se obtiene a partir del ajuste del espectro. Cabe resaltar que los polvos medidos contenían aún la sal formada durante la reacción (MgCl_2) y la que se usó como dispersante (NaCl), pero como éstas no tienen respuesta en este tipo de caracterización, no supone un inconveniente su presencia.

Como se observa, en todos los casos, se presenta el sextete característico del Fe metálico, pero se destaca que para las muestras con 95% y 90% de Mg, aparece una importante absorción gamma en la vecindad de la línea 4 del mismo. El patrón de absorción correspondiente se modeló con un singlete muy ensanchado. El mismo se asocia a una reacción incompleta, la cual se espera debido a la deficiencia de Mg y corresponde a los iones de Fe^{3+} en estado paramagnético del FeCl_3 sin reaccionar. De acuerdo a la literatura los iones de este compuesto tienen un corrimiento isomérico de 0.41 mm/s [2, 5-6]. Por otro lado, también se observa que el porcentaje de Fe metálico aumenta a medida que hay más Mg en la muestra (aunque no de manera lineal), dicho comportamiento es esperable.

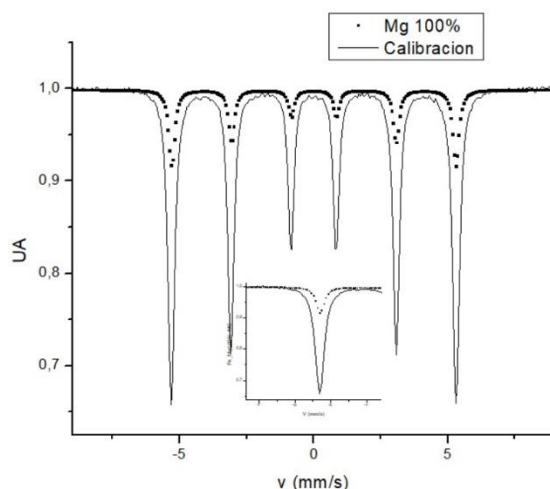


Fig. 4.4. Espectro con la estequiometría de Mg 100%. En el recuadro se muestra un acercamiento sobre la línea 1 del espectro medido. Ancho de pico medio de la línea 1, Mg100% = -0.28; Calibración = -0.31.

A manera de conclusión, y a partir de los resultados de la EM, se puede decir que el porcentaje más adecuado de Mg es 100% (Fig. 4.4.). Además, la presencia del singlete permite identificar una reacción incompleta, esto va a ser particularmente útil en el proceso de escalado de la producción de material hecho con el molino planetario Pulverisette 7, pero esto se analizará más adelante.

4.1.2 Difracción de rayos X (DRX)

La difracción de rayos X (DRX), fue usada como prueba de control posterior a la disolución de las sales (MgCl_2 y NaCl) que se formaron y usaron como dispersante en el proceso de molienda, respectivamente. Con esta prueba se verificó la presencia y cristalinidad del Fe metálico obtenido y la ausencia de fases no deseadas (sales, principalmente). Los picos característicos del hierro están aproximadamente en 2θ igual a 45° y 65° (Fig. 4.5, línea azul). En la figura se muestran comparativamente los difractogramas de polvos de hierro obtenidos para cada una de las estequiometrías usadas en la molienda.

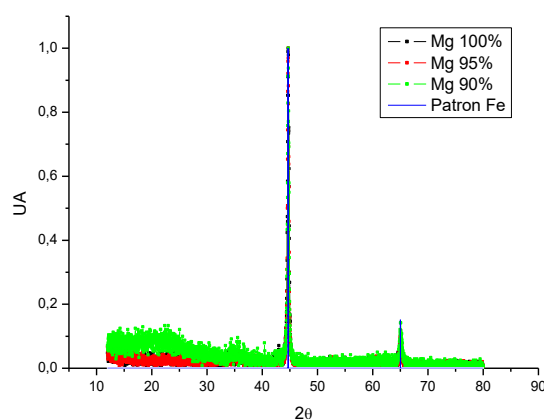


Fig. 4.5. Difractogramas obtenidos variando porcentaje de Mg.

Como se observa en la figura, los picos asociados al hierro están claramente posicionados en 45° y 65° en las tres muestras, dichas reflexiones corresponden a los planos (110) y (200), respectivamente. Por otro lado, se nota un ensanchamiento en 35° el cual puede ser asociado a una pequeña cantidad de óxido de hierro, pero por lo ancho del pico no se puede identificar cual óxido es. Por último, en la muestra Mg 90%, se aprecia una curvatura a bajos ángulos, esto se debe a que para esta muestra en particular, se contaba con poca cantidad de material y dicha curvatura puede ser asociada al portamuestras de vidrio.

4.1.3 Magnetómetro de muestra vibrante (VSM)

La magnetometría de muestra vibrante se usó para estudiar las propiedades magnéticas de los precursores del futuro núcleo de hierro del sistema $\text{Fe}/\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CitNa}$. La muestra usada para este fin fue una porción de la muestra con 100% de Mg. El estudio de los precursores se hizo sobre los polvos conteniendo las sales de Na y Mg, por lo que el valor de la masa de Fe necesario para obtener el valor de la M_s fue calculado a partir de la reacción química planteada en la sección 3.1.1,

este procedimiento se usó en todos los casos, cuando se medían los precursores con la presencia de sales. Se eligió esta muestra debido a que fue la única configuración para la cual se completó la reacción, es decir, en el Mössbauer no se observó la presencia otra señal aparte del sextete característico del Fe metálico.

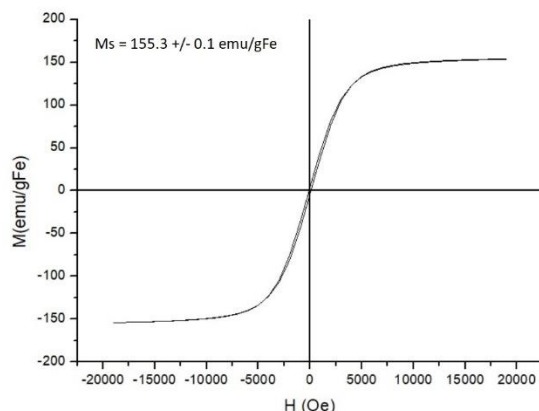


Fig. 4.6. Medida de magnetización de las NPs de Fe para la estequiometría Mg 100%.

En la Fig. 4.6., se presenta una medida M vs H hecha a temperatura ambiente. El valor de M_s calculado después del ajuste es de 155.3 emu/gFe, que debe ser comparado con los 217.6 emu/g del Fe metálico en *bulk* [7]. Cabe resaltar que dicho valor encontrado se encuentra en el rango de los reportados en la literatura para nanopartículas de Fe, los cuales van desde los 110 emu/gFe hasta los 180 emu/gFe [2, 8-11]. La diferencia que hay entre el valor en *bulk* y el que se obtiene en el tamaño nanométrico, se debe en alta medida a la gran relación superficie/volumen presente en nanopartículas y a la posible formación de una capa muy delgada de óxido de Fe en la superficie. La dependencia entre el volumen de una NP y la M_s se explicó en el marco teórico. El procedimiento efectuado para estimar el valor de M_s fue un ajuste de la magnetización de alto campo con la expresión, $M = M_s - \frac{bM_s}{H} - \frac{aM_s}{H^2}$, la cual es usada comúnmente en la literatura. Las razones por las cuales se usó este modelo se explicarán con más detalle en la sección 4.2.3.

4.1.4 Conclusión preliminar

Después de analizar los resultados obtenidos por EM, DRX y VSM, se concluyó que las mejores condiciones para obtener NPs de Fe metálico son:

- Relación masa reactivos – esferas de molienda de 1:16.
- Tiempo de molienda 6 horas.
- Atmósfera de trabajo de argón.
- Mezcla inicial de reactivos con 100% de Mg.

También se comprobó que el procedimiento para la disolución de las sales con agua miliQ y separación magnética con un posterior secado dentro de la cámara de atmósfera controlada fue adecuado, esto se demostró particularmente con la DRX.

Con las condiciones mencionadas anteriormente, se realizó un escalado de la producción de NPs de Fe metálico. El modelo Retsch 2000 tiene una capacidad máxima de 0.5 g de reactivos totales, con lo que se puede obtener 0.1 g de Fe metálico. En vista de ello se pasó al molino planetario Pulverisette 7 que permitió procesar hasta un máximo de 8 g de reactivos totales, los detalles se presentan a continuación.

4.2 ESCALAMIENTO EN LA PRODUCCIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE HIERRO: molino planetario Pulverisette 7

El escalado en la producción de NPs de Fe metálico surgió como una necesidad debido a la poca producción con el modelo Retsch 2000. Como se dijo en la sección anterior, la producción máxima con este molino era de 0.1 g de Fe aproximadamente. El modelo Pulverisette 7 tiene una mayor capacidad de producción, ya que sus reactores tienen un volumen de trabajo de 72 cm³ mientras que los del modelo Retsch 2000 solo cuentan con 8 cm³. El realizar este escalado debe tenerse en mente que las condiciones optimizadas en la etapa anterior, no necesariamente lo serán su totalidad para el procesamiento en el modelo Pulverisette 7, ya que se trata de molinos distintos y tienen, por lo tanto, impactos y movimientos de las esferas de molienda diferentes.

El escalado en la producción tiene un objetivo implícito, y es el de verificar si hay una reacción completa manteniendo las condiciones previas, o si se necesita una modificación en alguno de los parámetros. Por esta razón, se hizo un experimento donde se mantenían las condiciones, es decir, relación de masas 1:16 (correspondiente a 48 g de masa de esferas de molienda), 6 horas de tratamiento, atmósfera de argón y Mg 100%. Los resultados obtenidos por EM se muestran a continuación.

4.2.1 Espectroscopia Mössbauer (EM)

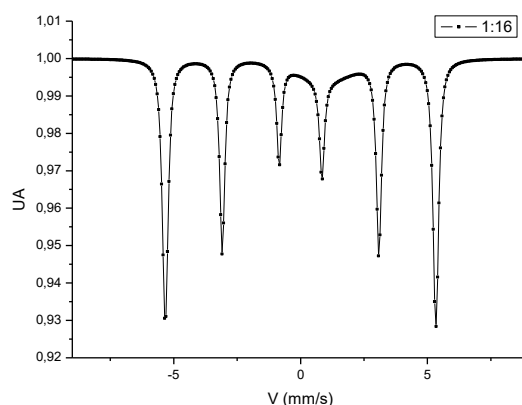


Fig. 4.7. Espectro Mössbauer de la relación de masas 1:16 y 6 horas de molienda. Campo hiperfino: 5.333 ± 0.002 mm/s.

El espectro que se obtuvo con las condiciones descritas es el que se muestra en la Fig. 4.7., en él se evidencia que hay una reacción incompleta debido a que aparece un singlete muy ancho que afecta la línea 4 del sexteto característico del hierro. Sin embargo, en este caso se está trabajando con la estequiometría ideal, es decir, Mg 100%. Se deduce entonces que al sistema no se le había suministrado la energía

necesaria. El razonamiento seguido es que al sistema se le entrega energía de dos formas: la primera, variando la relación de masas, y la segunda, aumentando el tiempo de molienda. Por eso, inicialmente, se plantearon 2 experimentos donde se varió la relación de masas (1:12 y 1:24) y se mantuvieron constantes las otras condiciones experimentales. El resultado comparativo se muestra a continuación:

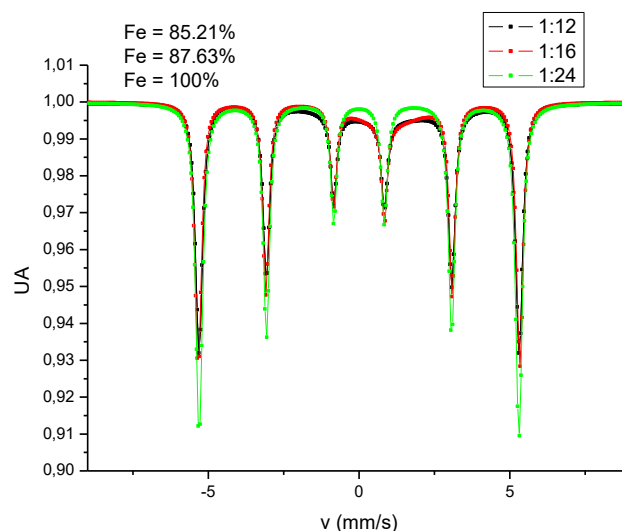


Fig. 4.8. Comparación de los espectros Mössbauer entre las distintas relaciones de masas. Campo hiperfino: 1:12 = 5.308 ± 0.001 mm/s, 1:16 = 5.334 ± 0.002 mm/s, 1:24 = 5.303 ± 0.002 mm/s,

Como se observa en la figura, a medida que va aumentando la relación de masas, se va incrementando el porcentaje de Fe metálico obtenido, hasta que en la relación 1:24 se obtiene un 100% de Fe metálico confirmando la primera hipótesis. El paso siguiente surgió de manera natural, y era tomar una reacción incompleta y aumentar el tiempo de molienda, así se comprobaba la segunda parte de la hipótesis. Para confirmar la segunda hipótesis se eligió la relación de masas 1:12 y se incrementó el tiempo de molienda a 9 horas. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

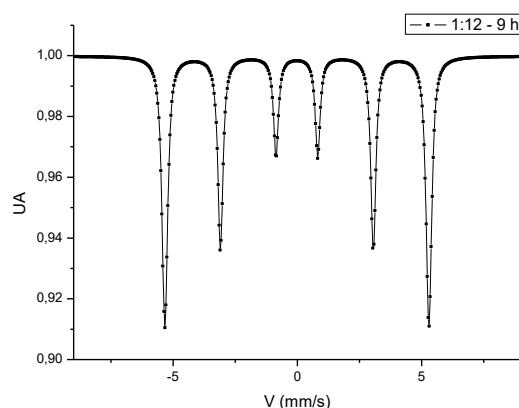


Fig. 4.9. Espectro Mössbauer de la relación 1:12 y 9 horas de molienda. Campo hiperfino: 5.311 ± 0.002 mm/s,

Como se observa en la figura anterior, se obtuvo el sextete característico del Fe metálico, además, con el ajuste se verificó que hubo una reacción completa. Este resultado se comparó con el obtenido con la relación 1:24 y 6 horas de molienda en la Fig. 4.10., donde ya se había comprobado el completado de la reacción.

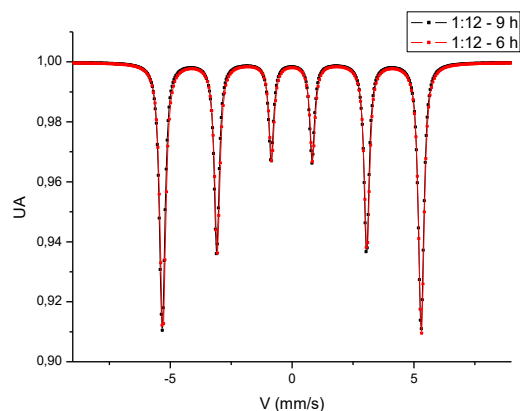


Fig. 4.10. Comparación entre las moliendas con relaciones 1:12 variando el tiempo de molienda.

Como se observa en la Fig. 4.10., hay un acuerdo muy importante entre los espectros, lo que comprueba la segunda parte de la hipótesis inicial de trabajo, es decir, se logró demostrar que se puede completar la reacción aumentando la relación de masas o aumentando el tiempo de molienda. Cabe recordar que se mantuvieron constantes la atmósfera de argón y la estequiometría con el Mg 100%. Además, se pudo escalar la producción de NPs de Fe metálico, ya que para la relación 1:24 se obtuvieron 0.4 g y para la relación 1:12 el total fue de 0.8 g.

Una vez comprobada las dos hipótesis mencionadas el siguiente objetivo fue obtener la mayor cantidad de NPs de Fe metálico con el molino Pulverisette 7. Los resultados se muestran a continuación.

4.2.1.1 Maximización de la producción de hierro metálico.

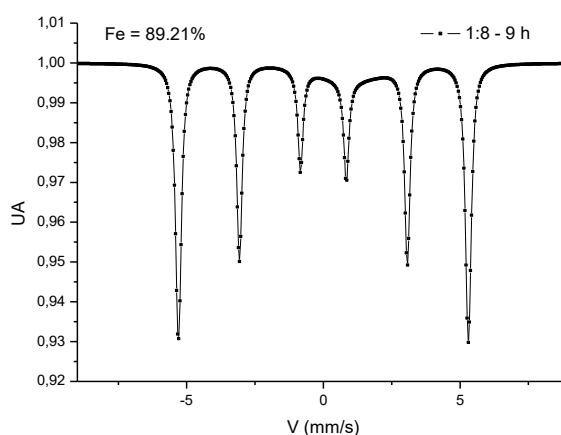


Fig. 4.11. Espectro Mössbauer relación 1:8 y 9 horas de molienda. Campo hiperfino: 5.304 ± 0.001 mm/s.

Para cumplir con este objetivo se plantearon distintas relaciones de masas. Se quería trabajar con una mayor cantidad de reactivos, ya que la masa de las esferas se mantuvo constante. Por esa razón se planteó una molienda con relación de masas 8:1 y 9 horas, con lo que se pretendía pasar a un rendimiento de 0.8 g a 1.2 g de NPs de Fe metálico. El espectro Mössbauer obtenido se presenta a continuación:

Como se observa en la Fig. 4.11, hay una reacción incompleta. Por ello se incrementó el tiempo de molienda a 12 horas (Fig. 4.12). Por comparación se realizó otro experimento con la relación de masas 1:12 y 9 horas (Fig. 4.13). los resultados obtenidos se presentan a continuación:

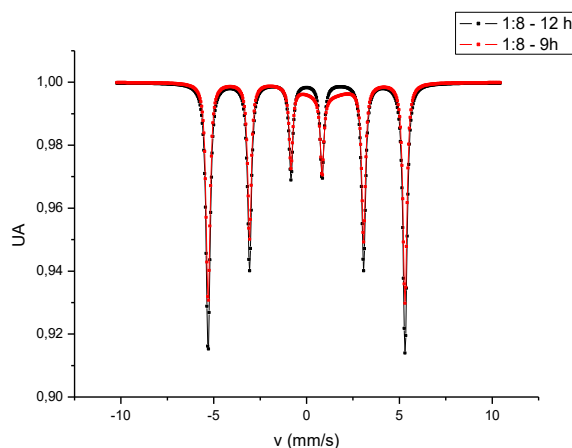


Fig. 4.12. Comparación entre los espectros Mössbauer obtenidos para la relación 1:8 variando tiempo de molienda. Campo hiperfino: 1:8 - 9 h = 5.304 ± 0.001 mm/s, 1:8 - 12 h = 5.305 ± 0.001 mm/s.

Como se observa en la Fig. 4.12 se comprueba que para la relación 1:8 y 12 h la reacción es completa. Persiguiendo el mismo objetivo llevó a cabo un experimento con relación de masas 1:6 (con la que se obtendrían 1.6 g de Fe aproximadamente). Se fue incrementando el tiempo de procesamiento hasta que se completó la reacción (ver Fig. 4.13).

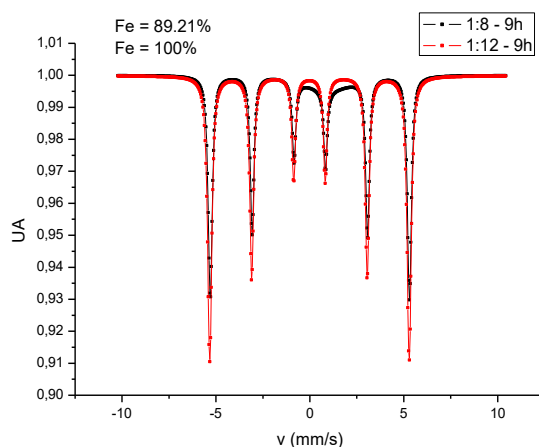


Fig. 4.13. Comparación entre los espectros Mössbauer manteniendo constante el tiempo de molienda y variando la relación de masas (1:8 y 1:12).

Como se observa en la Fig. 4.14., para completar la reacción empleando la relación de masas 1:6 fue necesario extender el tiempo a 24 h. Eso se nota en el incremento final de 6 horas de molienda, ya que como se venía observando, los incrementos venían siendo de 3 horas respecto del tiempo en el cual no se completaba la reacción. Este mayor incremento se debe a la dificultad creciente para completar la reacción a medida que se disminuye la relación de masas (manteniendo constante la masa de esferas), posiblemente se deba a que el volumen de trabajo del reactor llegó casi a su límite.

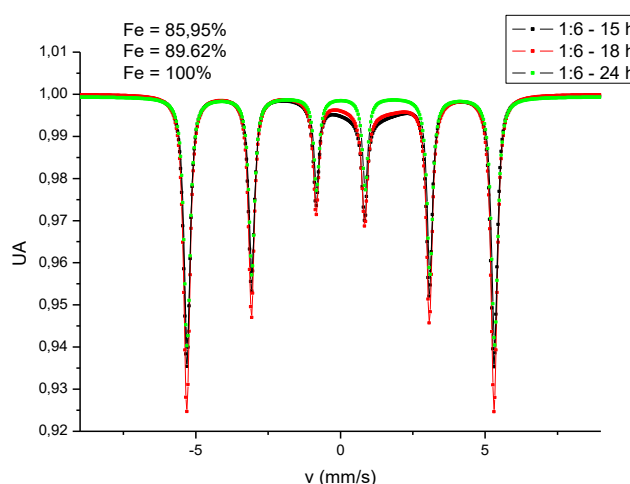


Fig. 4.14. Seguimiento con espectroscopia Mössbauer para la relación de masas 1:6. Campo hiperfino: 1:6 – 15 h = 5.308 ± 0.001 mm/s, 1:6 – 18 h = 5.311 ± 0.001 mm/s, 1:6 – 24 h = 5.315 ± 0.001 mm/s.

4.2.2 Difracción de rayos X (DRX)

En esta fase, la caracterización por DRX se usó además para calcular el tamaño promedio de los cristalitas de Fe, lo que sirvió para ajustar los cálculos del recubrimiento de magnetita que se emplea como protección del núcleo y brinda biocompatibilidad al mismo. Los resultados obtenidos se presentan en la siguiente figura.

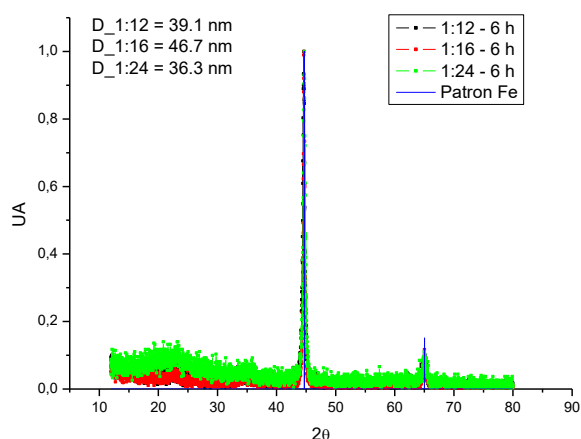


Fig. 4.15. Comparación de los difractogramas medidos para las distintas relaciones de masa y 6 horas de molienda.

Las reflexiones asociadas a los planos (110) y (200) del Fe metálico se encuentran 45° y 65° como es de esperarse. No se evidencia la presencia de fases indeseables y al igual que para los polvos obtenidos con el modelo Retsch 2000 se encuentra una señal ensanchada centrada en $2\theta = 35^\circ$. La curvatura a bajos ángulos se asocia al portamuestras de vidrio.

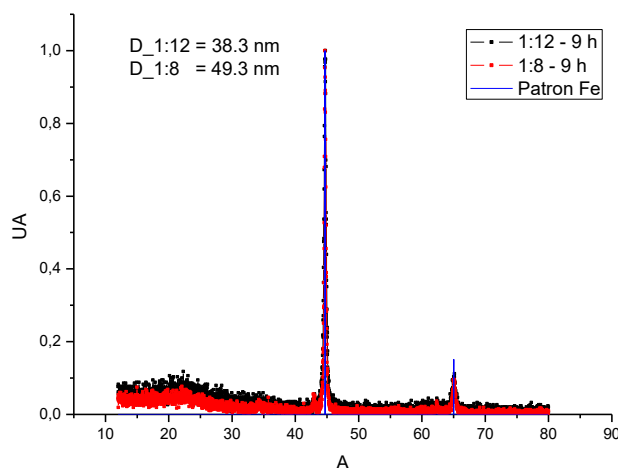


Fig. 4.16. Comparación de los difractogramas medidos para las distintas relaciones de masa y 9 horas de molienda.

Para el análisis del tamaño promedio de las NPs de hierro, se usó la fórmula de Scherrer reseñada en la sección 3.2.3. Con los datos del ajuste, posición angular de las reflexiones y el valor de λ de la radiación X, se obtuvieron los diámetros medios de los cristalitas de Fe que se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 4.1 Diámetros calculados de las nanopartículas de hierro metálico

Relación de masas	Diámetro (nm)	
	6h	9h
1:8	--	49.3
1:12	39.1	38.3
1:16	46.7	--
1:24	36.1	--

Cabe recordar que la DRX se hizo como una prueba de control después de disolver las sales y como paso previo al crecimiento de la capa de magnetita y posterior estabilización con citrato de sodio.

4.2.3 Magnetometría de muestra vibrante (VSM)

En esta etapa, las medidas con el VSM se hicieron con el fin de estudiar el comportamiento magnético de las NPs de Fe metálico obtenidas en las distintas condiciones de molienda. Dicho seguimiento se hizo tanto con los polvos conteniendo las sales de Na y Mg, como después de eliminarlas. En las siguientes figuras se muestran, comparativamente, las curvas M vs H de las distintas moliendas hechas.

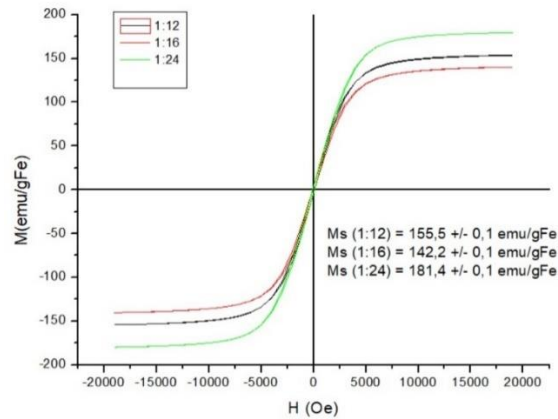


Fig. 4.17. Curvas M vs H de los polvos de Fe más sales. Tiempo de molienda 6 h.

Como se observa en la figura, las curvas M vs H tienen la forma sigmoideal característica. Las M_s calculadas se hicieron mediante el ajuste de la expresión, $M = M_s - \frac{bM_s}{H} - \frac{aM_s}{H^2}$. Esta expresión se ajustó con todos sus términos cuando se trataba de un sistema Fe más sales, ya que de esta manera se justificaba la contribución diamagnética de las sales. Por otro lado, cuando se ajustaron polvos de Fe sin sales, se omitió el segundo término. Cabe resaltar que los valores obtenidos corresponden a la mitad superior del rango de valores reportados en la literatura, los cuales se encuentran entre 110 y 180 emu/gFe [2, 12-16]. El campo coercitivo asociado a las 3 moliendas es del orden de los 100 Oe en todos los casos, siendo éste un valor mucho menor que los 350 Oe reportados en los trabajos de McCormick et. al. [2].

A continuación, se presentan las curvas M vs H de los polvos después de disolver las sales:

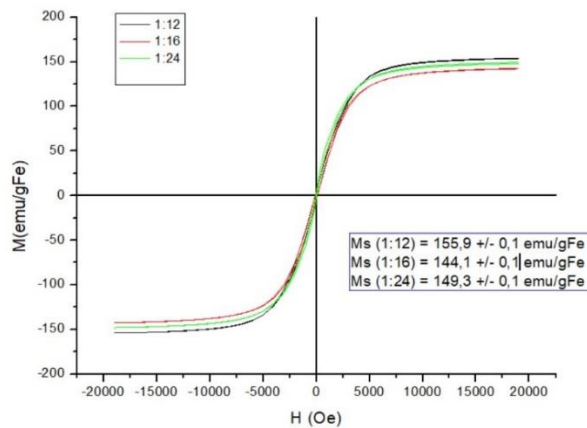


Fig. 4.18. Curvas M vs H medidos después del proceso de disolución de las sales producto de la molienda.

Como se observa en la Fig. 4.18., las M_s parecen tender a un valor cercano a los 150 emu/gFe, y el H_c para las relaciones de masas medidas se mantiene en el orden de los 90 Oe.

En la siguiente tabla, y a manera de resumen, se presentan las M_s de todas las moliendas hechas en la presente investigación. Las gráficas y ajustes de dichas medidas se adjuntan el apéndice 1.

Tabla 4.2. M_s de todas las moliendas hechas durante la investigación

Muestra		$M_s(\text{emu/gFe})$	
Tiempo (h)	Relación de masas	Fe + sales	Fe
6	1:12	155.5 ± 0.1	155.9 ± 0.1
	1:16	142.2 ± 0.1	144.1 ± 0.1
	1:24	181.4 ± 0.1	149.3 ± 0.1
9	1:8	169.5 ± 0.1	148.9 ± 0.1
	1:12	190.1 ± 0.1	138.8 ± 0.1
	1:24	167.4 ± 0.1	118.6*
12	1:24	169.8 ± 0.1	--*
15	1:6	168.1 ± 0.1	142.7
18	1:6	185.8 ± 0.1	--*
24	1:6	188.8 ± 0.1	--*

*La disminución hasta un valor cercano a 100 emu/gFe en la M_s se debe a que en el periodo de almacenamiento de la muestra, la cámara de atmósfera controlada sufrió un daño que hizo que la atmósfera tuviera un exceso de O_2 y una alta humedad. Este efecto dañó en mayor medida a las muestras de Fe puro molidas en 12, 18 y 24 h, las cuales tuvieron que ser desechadas.

Como se observa en la tabla 4.2., todos los valores de magnetizaciones de saturación en los polvos sin la presencia de sales, están por encima de 130 emu/gFe. Además, se nota una disminución de dicha magnetización después de hacer la disolución de las sales. Esto se puede deber a un incremento de la cantidad de óxido en la superficie de la partícula durante este proceso, ya que este se hace en atmósfera y temperatura ambiente. La disminución de la M_s en la etapa de disolución de las sales se evidenció por una disminución de la respuesta magnética de las NPs a los imanes empleados durante el procedimiento. Se manifestó visualmente por un “chisporroteo” cuando los polvos de Fe y sales se pusieron en contacto con el agua miliQ, por el hecho de que en sucesivos lavados las NPs reaccionaran de manera cada vez más débil al imán con el que se hacía la separación magnética, y por un calentamiento del reactor donde se llevaba a cabo el proceso de molienda.

Para los ajustes de las curvas M vs H en los polvos de Fe y los polvos de Fe más sales, se intentó inicialmente un ajuste tipo Langevin y otro con la función arcotangente, que son modelos ampliamente usados en la literatura y se representan por las Ecs. 4.1 y 4.2., las cuales fueron implementadas en el programa MatLAB.

$$M = N \int D(\mu) \left[\text{Coth} \left(\frac{\mu \mu_o H}{k_B T} \right) - \frac{k_B T}{\mu \mu_o H} \right] d\mu + aH + C, \text{ Ec. 4.1. [17].}$$

Siendo $D(\mu)$ una distribución LogNormal de momentos, a una constante paramagnética y C una constante que permite corregir el *offset* vertical.

$$M = \frac{2M_s}{\pi} \int D(\chi) \text{atan} \left[\frac{\pi \chi H}{2M_s} \right] d\chi + aH + C, \text{ 4.2. [18]}$$

Siendo $D(\chi)$ una distribución de susceptibilidades, a una constante paramagnética y C una constante que permite corregir el *offset* vertical.

Como se observa en la tabla 4.3 casi todos los valores del campo coercitivo H_c están entre 60 y 100 Oe. Dado que el campo de anisotropía del Fe, $H_K = 2K/M_s$, es del orden de 600 Oe, $H_c/H_K \sim 0.13$, se puede concluir que el sistema de NPs se encuentra parcialmente fuera del equilibrio. Por otro lado, el tamaño medio de NP es relativamente grande por lo que puede sospecharse que exista una fracción de partículas que supere el tamaño crítico para monodominio. Esta situación presenta una dificultad para seleccionar una función analítica adecuada con la cual describir la curva de M vs. H . Si todas las NPs fueran monodominio, dado que el apartamiento del equilibrio no es muy grande y que es esperable que los ejes fáciles se hallen orientados aleatoriamente, se podría suponer que la función de Langevin (Ec. 4.1) permita una descripción razonable siempre que se modifique su argumento para incorporar la coercitividad, en la forma $H \rightarrow H \pm H_c$. Si por el contrario hubiera una contribución importante al momento de la muestra proveniente de NPs no-monodominio, posiblemente la Ec. 4.2 sería la más adecuada (haciendo nuevamente el cambio $H \rightarrow H \pm H_c$). Sin embargo, y como se ve en las Figs. 4.19 y 4.20, los ajustes no fueron adecuados a campos altos. Por otro lado, se intentó un ajuste con la función tangente hiperbólica (Ec. 4.3), que *a priori* parece muy poco adecuada porque sólo se aplicaría a un sistema con anisotropía uniaxial con todos los ejes fáciles orientados con el campo aplicado, una situación claramente no esperada. En este caso el ajuste fue el más adecuado para toda la curva (Fig. 4.21), pero por ser una función que no representa el sistema estudiado, también fue desechada su implementación.

$$M = M_s \int D(\mu) \tanh\left(\frac{\mu M_s V H_{max}}{k_B T}\right) d\mu + aH + C, \text{ Ec. 4.3. [17]}$$

Finalmente, se decidió hacer un ajuste a altos campos con la Ec. 4.4., ajustando el término lineal en el sistema con sales y sin dicho término en el sistema con Fe puro, como se explicó anteriormente (Ver Fig. 4.22).

$$M = M_s - \frac{bM_s}{H} - \frac{aM_s}{H^2}, \text{ Ec. 4.4. [17].}$$

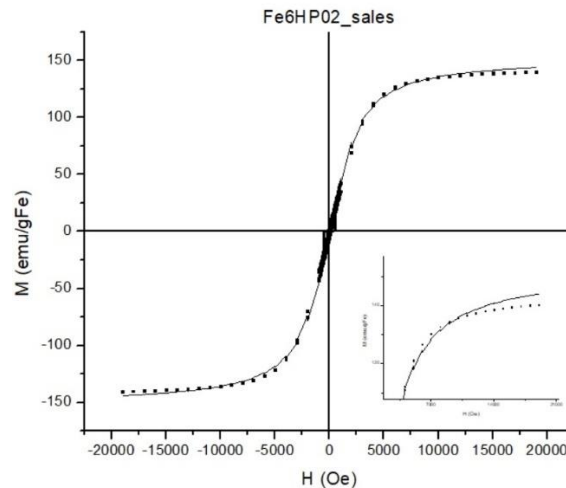


Fig. 4.19. Ajuste de la muestra Fe6HP02_sales con la función de Langevin, Ec. 4.1.

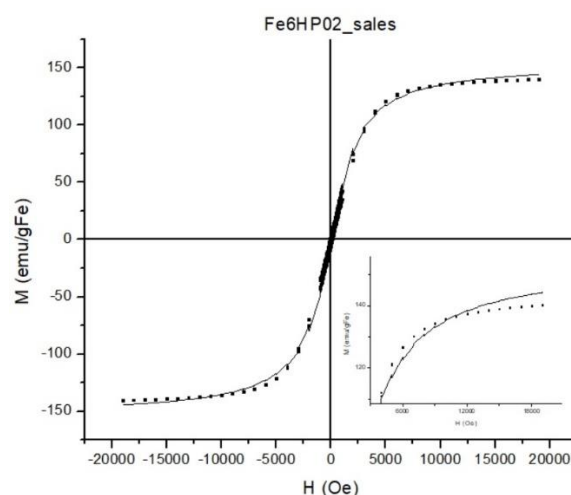


Fig. 4.20. Ajuste de la muestra Fe6HP02_sales con la función de arcotangente, Ec. 4.2.

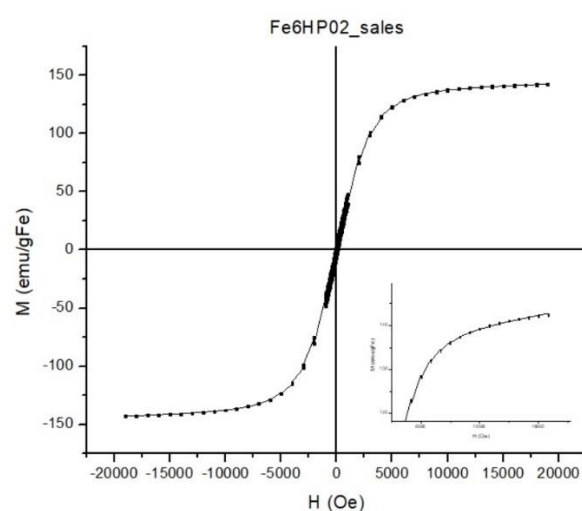


Fig. 4.21. Ajuste de la muestra Fe6HP02_sales con la función tangente hiperbólica, Ec. 4.3.

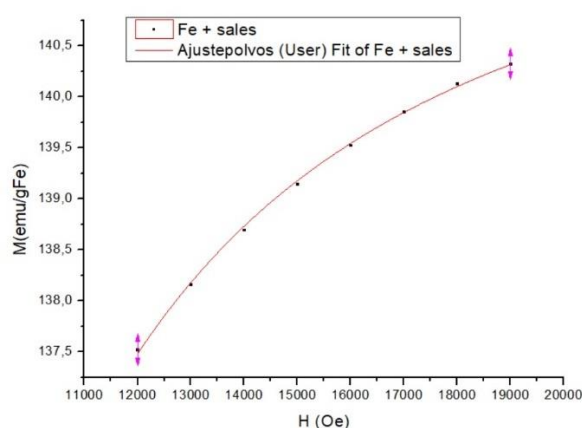


Fig. 4.22. Ajuste de la muestra Fe6HP02_sales con el modelo de alto campo, Ec. 4.4.

A continuación, se presenta una tabla con los valores más representativos de los sistemas, Fe y Fe más sales, obtenidos en esta tesis. Los valores del campo coercitivo y magnetización remanente (H_c y M_r) se obtuvieron a partir de los cortes con los ejes X e Y de las medidas de M vs H de cada una de las muestras, respectivamente. Por otro

lado, el valor de χ se obtuvo después de ajustar la parte lineal en campos bajos de dichas curvas. Todas las medidas de M vs H se pueden ver en el apéndice 1.

Tabla 4.3. Propiedades magnéticas de los sistemas magnéticos en polvo estudiados durante esta tesis doctoral.

Muestra		H _c (Oe)	M _r (emu/gFe)	χ (emu/Oe.gFe)
Tiempo (h)	Relación de masas			
6	1:12_sales	92.2 ± 1.1	4.0 ± 0.2	4.3x10 ⁻² ± 3x10 ⁻⁵
	1:12_Fe	91.9 ± 1.2	4.0 ± 0.1	4.3 x10 ⁻² ± 3x10 ⁻⁵
	1:16_sales	97.4 ± 1.4	3.9 ± 0.3	3.9 x10 ⁻² ± 4x10 ⁻⁵
	1:16_Fe	98.8 ± 1.6	4.8 ± 0.5	4.5 x10 ⁻² ± 1x10 ⁻⁴
	1:24_sales	83.5 ± 0.8	3.7 ± 0.1	2.9 x10 ⁻² ± 1x10 ⁻⁶
	1:24_Fe	84.5 ± 0.7	4.6 ± 0.2	6.9 x10 ⁻² ± 7x10 ⁻⁶
9	1:8_sales	74.3 ± 0.4	5.3 ± 0.4	5.7 x10 ⁻² ± 3x10 ⁻⁵
	1:8_Fe	80.6 ± 1.3	4.3 ± 0.6	4.7 x10 ⁻² ± 3x10 ⁻⁴
	1:12_sales	88.4 ± 1.0	4.0 ± 0.3	5.3 x10 ⁻² ± 3x10 ⁻⁴
	1:12_Fe	46.5 ± 0.7	3.5 ± 0.5	4.5 x10 ⁻² ± 2x10 ⁻⁴
	1:24_sales	111.3 ± 1.5	5.3 ± 0.7	4.7 x10 ⁻² ± 7x10 ⁻⁵
	1:24_Fe	75.6 ± 0.4	3.1 ± 0.1	3.7 x10 ⁻² ± 4x10 ⁻⁴
12	1:24_sales	83.8 ± 0.9	3.8 ± 0.2	4.4 x10 ⁻² ± 5x10 ⁻⁵
15	1:6_sales	64.5 ± 1.1	3.0 ± 0.2	4.7 x10 ⁻² ± 3x10 ⁻⁵
	1:6_Fe	75.8 ± 0.3	5.2 ± 0.4	5.3 x10 ⁻² ± 3x10 ⁻⁴
18	1:6_sales	60.0 ± 0.5	3.4 ± 0.2	5.6 x10 ⁻² ± 7x10 ⁻⁵
24	1:6_sales	60.1 ± 0.4	3.6 ± 0.1	5.4 x10 ⁻² ± 5x10 ⁻⁵

Las figuras con los ajustes hechos para obtener la M_s de los sistemas en polvo se pueden observar en el apéndice 1. Cabe resaltar que para el caso de los sistemas coloidales, todos los ajustes fueron hechos con la función de Langevin, lo cual está plenamente justificada en este tipo de sistemas [17].

4.2.4 Conclusión preliminar

Se demostró que es posible un escalado en la producción de NPM de Fe metálico que pueden servir como núcleos del sistema Fe/Fe₃O₄@CitNa. La producción máxima se obtuvo para la relación de masas 1:6 la cual se completó luego de 24 h de molienda y permitió obtener 1.6 g de Fe por reactor. Por otro lado, se notó una disminución en la M_s de todas las muestras medidas luego del proceso de disolución de las sales, en este punto, también se logró demostrar que se obtuvo Fe metálico cristalino y se comprobó, además, que el proceso de disolución de sales fue exitoso.

4.3 SISTEMA Fe/Fe₃O₄@CitNa ESTABILIZADO

Como se explicó en la sección 3.1.4.1, el sistema fue estabilizado en forma coloidal con citrato de sodio (CitNa). Los coloides obtenidos fueron objeto de múltiples estudios para verificar su aptitud para la hipertermia magnética. Los resultados de las principales pruebas de caracterización se presentan a continuación.

4.3.1 Magnetómetro de muestra vibrante (VSM)

Una de las medidas que ha servido como prueba de control durante la presente tesis doctoral es el VSM. Con estas medidas se estudiaron las propiedades magnéticas del sistema estabilizado **Fe/Fe₃O₄@CitNa**. Por otro lado, también fue de utilidad para verificar los resultados del experimento de separación magnética que se reseñó en el capítulo 3.

En esta etapa se hicieron estudios sobre las muestras Fe6HP02, Fe6HP03 y Fe9HP01. Las medidas hechas y sus ajustes se pueden observar en la siguiente gráfica.

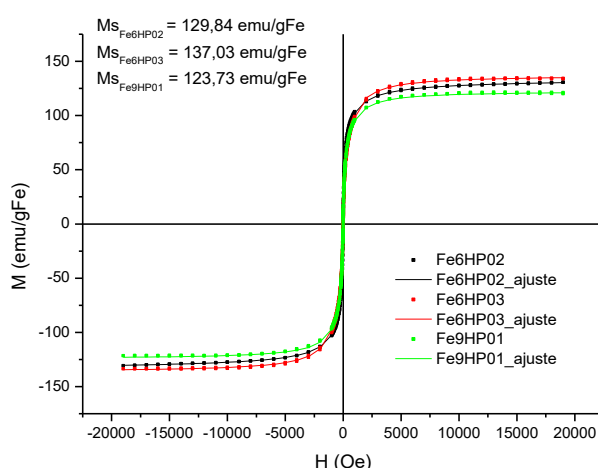


Fig. 4.23. Comparación de las curvas M vs H para los sistemas Fe/Fe₃O₄@CitNa a partir de distintas condiciones de molienda.

De la Fig. 4.23., se nota un cambio pronunciado en el crecimiento de la curva de M vs H respecto de las mismas curvas en las etapas previas (Fe metálico más sales y sin sales, Fig. 4.24). Esto se puede explicar debido a que este sistema es un coloide que responde, como era de esperar, con un comportamiento Langevin típico. En todos los casos $H_c \leq 2$ Oe (dentro del orden de resolución del VSM).

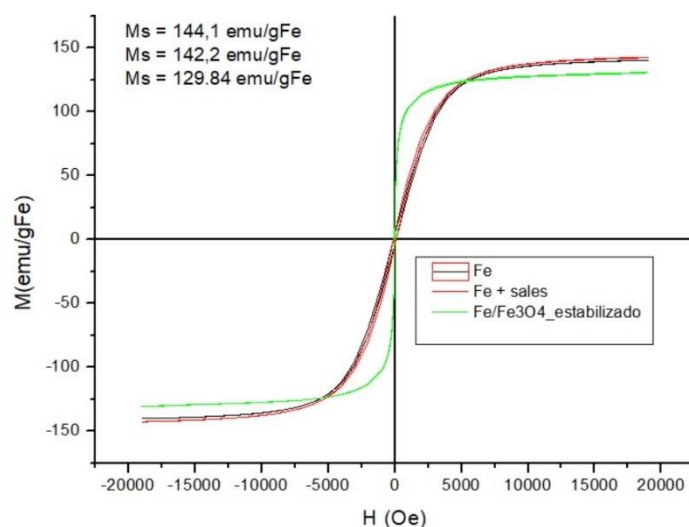


Fig. 4.24. Curvas M vs H muestra Fe6HP02.

Por otro lado, se nota una disminución de la M_s respecto de las etapas previas, como se muestra en la tabla 4.4. Esto se puede atribuir a la capa de magnetita, la cual reduce la respuesta específica media del material, dada la menor M_s de este material. Por otro lado, podría existir una disminución adicional originado en la acción del surfactante sobre los estados electrónicos de la magnetita en la interfaz, ya que se ha reportado un efecto similar en NPs de magnetita funcionalizadas con ácido cítrico [19]. Cabe mencionar también que los procesos de recubrimiento con magnetita y de funcionalización con citrato de sodio condujeron a una marcada disminución del tamaño de los núcleos de Fe (ver Fig. 4.28). Esta reducción de tamaño puede producir una reducción adicional de la respuesta magnética, ya que se ha demostrado que M_s decrece al decrecer el tamaño de NPs de Fe, magnetita y otros materiales por debajo de cierto límite [17].

Tabla 4.4 M_s de las distintas etapas de los coloides estabilizados

Muestra	M_s (emu/gFe)		
	Fe + sales	Fe	Fe/Fe ₃ O ₄ @CitNa
Fe6HP02	137.4	135.0	129.8
Fe6HP03	174.6	144.6	137.0
Fe9HP01	181.2	132.7	123.7

Las M_s de los sistemas estabilizados, en este caso por encima de los 120 emu/gFe, corresponden a los valores reportados en la literatura para este tipo de sistemas [8 – 16, 20-22].

Mediante el ajuste de las curvas M vs. H de los coloides se puede obtener el diámetro magnético medio de las NP. Se espera que dicho valor sea menor que el diámetro físico de la NPM ya que se considera que hay una capa “muerta” magnéticamente debida al desorden en su parte más externa del núcleo de Fe y en la capa delgada de magnetita. En este último caso el desorden magnético podría verse acentuado por la presencia de citrato de sodio [19]. Las distribuciones del diámetro magnético (D_m) fueron obtenidas a partir del ajuste de las curvas M vs H con una distribución LogNormal de respuestas Langevin. Las gráficas se presentan a continuación (Fig. 4.25).

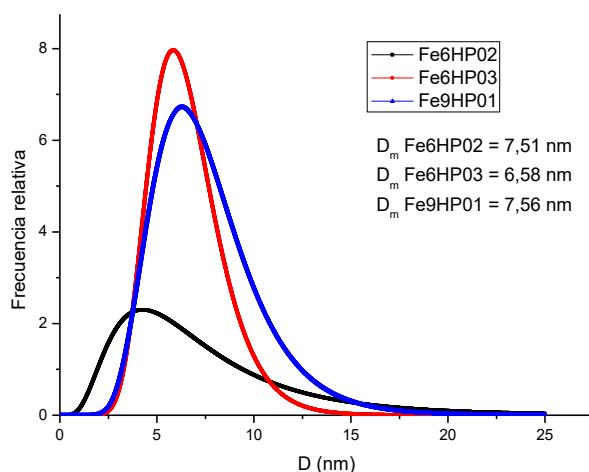


Fig. 4.25. Distribución de D_m de la muestra Fe6HP02.

Los valores medios D_m obtenidos fueron de 7.51 nm, 6.58 nm y 7.56 nm, con desviaciones estándar 3.32 nm, 2.24 nm y 2.60 nm, para los coloides Fe6HP02, Fe6HP03 y Fe9HP01, respectivamente. Dichos diámetros medios son menores que los diámetros físicos de cada sistema como se verá en la sección 4.3.2., como es esperado.

4.3.1.1 Separación magnética

Como se mencionó en el capítulo 3, se hizo un experimento de separación magnética partiendo de la premisa de que la fuerza del campo magnético sobre una NP es proporcional al momento magnético de ésta (Ec. 3.17). Las partículas grandes alcanzan entonces velocidades mayores que las partículas chicas, lo que supone la separación de una coloide madre en clases con tamaños medios de partícula diferentes y más acotados (ver Fig. 3.17). Después de hacer la separación magnética, se hizo un seguimiento por VSM a algunas muestras representativas del coloide original, dichas muestras fueron etiquetadas como Fe6HP03, Fe6HP03_1 y Fe6HP03_3. La primera, es la muestra original que sirvió como control, la segunda, es una de las muestras más próxima a los imanes, y la tercera, la muestra que está más alejada de los imanes, es decir, en la posición central del separador mostrado en la Fig. 3.17. *A priori*, se espera que la muestra Fe6HP03_1 tenga una presencia mayor de partículas grandes, y por tanto M saturara más rápido con el campo que la muestra Fe6HP03_3. Los resultados de obtenidos fueron:

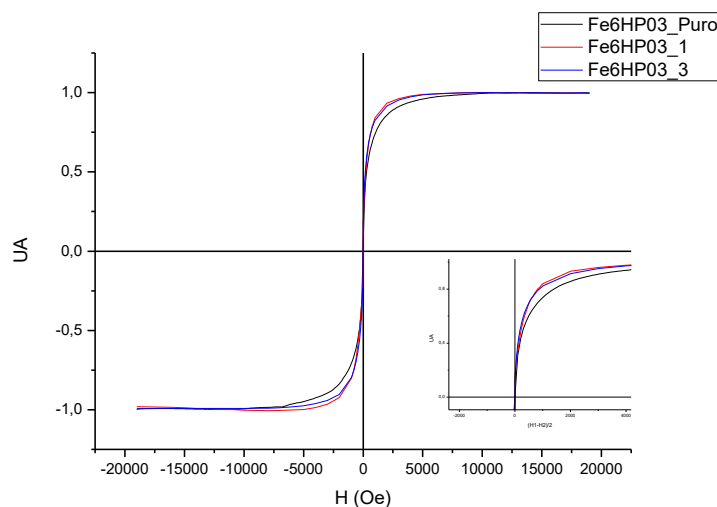


Fig. 4.26. Curvas M vs H muestras separadas magnéticamente.

Como se observa en el recuadro de la gráfica anterior, línea azul correspondiente a la muestra Fe6HP01_1 satura más rápidamente que la roja (Fe6HP03_3), es decir, tiene una presencia mayor de partículas grandes, lo cual se verifica en el estudio de tamaño de la siguiente sección.

4.3.2 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

Esta caracterización se hizo con el objetivo de encontrar el tamaño medio y la distribución de tamaños de las partículas del sistema Fe/Fe₃O₄@CitNa. Como se explicó anteriormente, la estrategia para obtener un diámetro medio (D) de las NPs del

sistema Fe/Fe₃O₄ consistió en medir el diámetro mayor (D_M) y menor (D_m) de cada nanopartícula y posteriormente promediarlos. El histograma obtenido se hizo a partir de las imágenes HR-TEM de la muestra Fe6HP02 (Fig. 4.23., procesada con una relación de masas 1:16).

Como se observa en el histograma obtenido (Fig. 4.27), el diámetro medio de las NP es de 11.4 nm con una desviación estándar $\sigma = 3.8$. Este valor de σ es alto, lo cual es esperable del proceso de mecanosíntesis. Dicha dispersión dio pie al mencionado experimento de separación magnética, destinado a obtener sub-muestras con tamaños diferentes y más acotados. Una perspectiva interesante de la separación es la de poder disponer de sub-muestras con diferentes tamaños medios obtenidas en el mismo proceso de síntesis, por lo que se espera que sus propiedades, excepto aquellas dependientes del tamaño, sean las mismas.

Observando la Fig. 4.27 se nota una gran diferencia con el tamaño calculado a partir de la ecuación de Scherrer usada para analizar los resultados de DRX de los polvos (relación de masas 1:16 y 6 h de molienda), que fue de 46.7 nm. El histograma de las NPs Fe/Fe₃O₄@CitNa ilustrado en la Fig. 4.28 corresponde en cambio a un tamaño medio de 12.04 nm. Esta marcada diferencia es atribuible al procedimiento para crecimiento de la capa de magnetita y posterior estabilización con citrato de sodio, aunque sus causas no fueron estudiadas. El ultrasonido usado es de baja potencia, por lo que es poco probable que su aplicación haya contribuido a la disminución de tamaño.

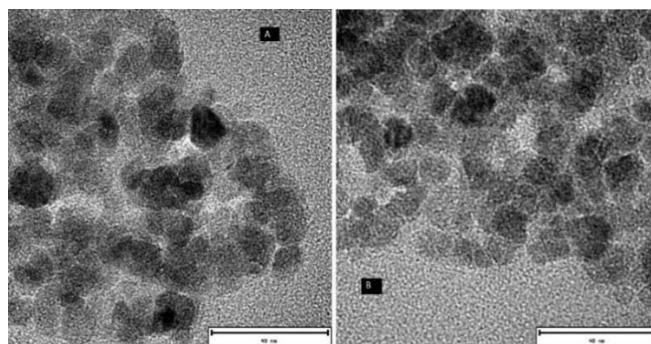


Fig. 4.27. Sistema Fe/Fe₃O₄@CitNa (muestra Fe6HP02). Relación de masas 1:16.

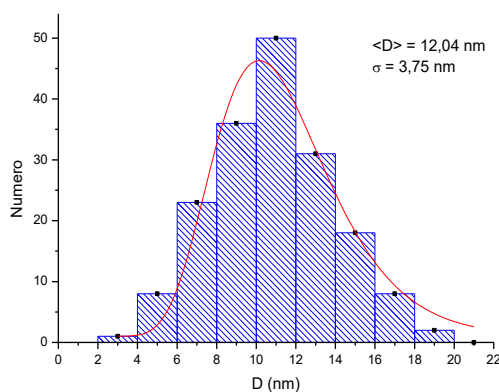


Fig. 4.28. Distribución de tamaños de la muestra Fe6HP02.

Por otro lado, se encontró que las partículas obtenidas tienden a ser alargadas. Esto se deduce a partir de la comparación del tamaño medio del D_M y el D_m , los cuales tienen valores de 11.69 nm y 9.77 nm, respectivamente. Por último, se presenta una tabla con los distintos tamaños medios y desviaciones estándar σ obtenidos para distintas relaciones de masa, los histogramas obtenidos y algunas imágenes TEM se muestran en el apéndice 3.

Los tamaños finales, del sistema $\text{Fe}/\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CitNa}$, obtenidos en este trabajo de investigación están en el orden de los reportados por distintos grupos los cuales oscilan desde los 5 nm y los 30 nm [2, 3, 8, 11, 12 - 16]. Cabe resaltar que muchos de estos trabajos reportan la obtención del sistema obtenido por métodos como la síntesis hidrotermal donde el control del tamaño del núcleo es más fácil, así como la geometría, pero tiene la desventaja de su bajo rendimiento. Por otro lado, para la obtención del recubrimiento de Fe_3O_4 usualmente se hace una oxidación controlada [20 - 22]. Por último, respecto a la obtención del sistema $\text{Fe}/\text{Fe}_3\text{O}_4$ por mecano-síntesis existen muy pocos reportes, pero el tamaño está en el rango de 10 nm a 20 nm [2, 3 - 11].

Tabla 4.5 Tamaño medio de los sistemas $\text{Fe}/\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CitNa}$

Relación de masas – tiempo molienda	Diámetro			σ
	D (nm)	D_M (nm)	D_m (nm)	
1:16 – 6 h	12.0	11.7	9.8	3.8
1:12 – 9 h	12.0	13.7	9.9	4.6
1:24 – 6 h	18.7	20.7	16.3	7.0
1:24 – 9 h	15.4	17.6	13.6	5.5
1:24 – 12 h	16.4	18.6	14.6	5.8
Fe6HP03_1*	15.2	12.2	16.7	5.8
Fe6HP03_3*	14.1	11.7	14.8	5.2

*Estas muestras fueron obtenidas a partir de la separación magnética reseñada en el capítulo 3. Las gráficas con las distribuciones de tamaño se encuentran en el apéndice 2.

4.3.3 Difracción de electrones (DE)

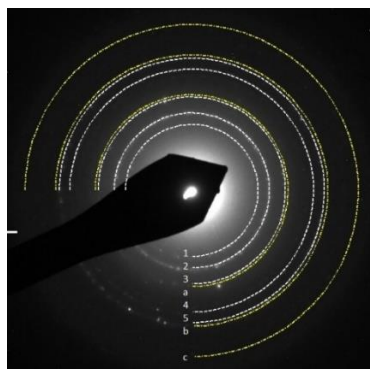


Fig. 4.29. Difracción de electrones en la muestra Fe6HP03. Las líneas amarillas corresponden al hierro metálico y las blancas a la magnetita.

Uno de los requerimientos principales de los sistemas que tienen un potencial de aplicación biomédico es la biocompatibilidad. En este sistema, esa función la cumple el recubrimiento de Fe_3O_4 el cual no pudo distinguirse en las imágenes de HR-TEM. Se usó entonces la difracción de electrones para identificar las fases cristalinas. El modelamiento y equipo usados se detallaron en la sección 3.2.8. A continuación se presenta la medida hecha en la muestra Fe6HP03 que se hizo a partir de núcleos de hierro con relación de masas 1:24 y 6 h de molienda.

Después de analizar los resultados de la medida de DE, se pudo evidenciar la presencia de magnetita y reconfirmar la presencia del núcleo de Fe metálico. En la siguiente tabla se identifican los rótulos de la Fig. 4.29.

Tabla 4.6 Ángulos y distancias interplanares para el Fe y Fe_3O_4 [23-24]

Hierro				Magnetita			
Rótulo	2θ	d (Å)	Plano	Rótulo	2θ	d (Å)	Plano
a	44.671	2.026	(100)	1	30.362	2.942	(220)
b	65.018	1.433	(200)	2	63.166	2.508	(311)
c	82.329	1.170	(211)	3	43.473	2.080	(400)
				4	57.512	1.601	(511)
				5	35.765	1.471	(440)

En el apéndice 5, se adjuntan las difracciones de electrones de las muestras Fe6HP03_1, Fe6HP03_3 y Fe9HP01. Estas muestras fueron usadas para distintos objetivos a lo largo de la realización de esta tesis doctoral.

4.3.4 Potencial Z

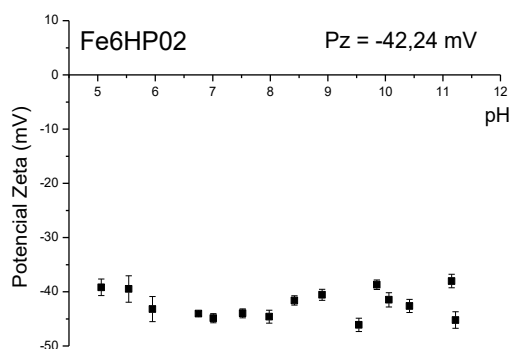


Fig. 4.30. Medida del potencial Z para la muestra Fe6HP02.

Uno de los aspectos más importantes en los sistemas coloidales es verificar su estabilidad electrostática, esto se puede medir con el potencial Z. Como se explicó anteriormente, los núcleos de Fe metálico son recubiertos con una capa de Fe_3O_4 y estabilizados con citrato de sodio, siendo este último componente es el que le da la estabilidad al sistema. A continuación, se presentan las medidas de potencial Z variando el pH para el sistema Fe6HP02 que se obtuvo con una relación de masas 1:16.

Tabla. 4.7. Potencial Z de los distintos sistemas coloidales obtenidos.

Muestra	Relación de masas	Potencial Z (mV)
Fe6HP02	1:16	-42.2
Fe9HP01	1:12	-36.9
Fe6HP03*	1:24	-41.4
Fe6HP03_1*	1:24	-44.7
Fe6HP03_3*	1:24	-42.7
Fe9HP02	1:24	-39.5

*Estás muestras fueron utilizadas para implementar una rutina de separación magnética.

Como se observa en la figura, la muestra Fe6HP02 presenta una buena estabilidad a distintos pH, el valor promedio calculado es de -42.2 mV. Este valor se refleja en que la muestra se ha mantenido estable por más de un año con una decantación mínima. A continuación, se presenta una tabla con el resumen de los potenciales Z de los distintos coloides obtenidos durante la presente investigación.

Por último, se presentan las curvas de medidas del potencial Z variando pH con el objetivo de encontrar el punto isoeléctrico. Se debe destacar que para las siguientes curvas obtenidas se hizo una disminución del pH de manera automatizada, mientras que en las medidas registradas en la Fig. 4.30., dicha disminución se hizo por parte del autor de esta tesis doctoral. Estas medidas se hicieron para las muestras Fe6HP03 y Fe9HP01. El punto isoeléctrico se encuentra en 1.70 y 1.74, respectivamente.

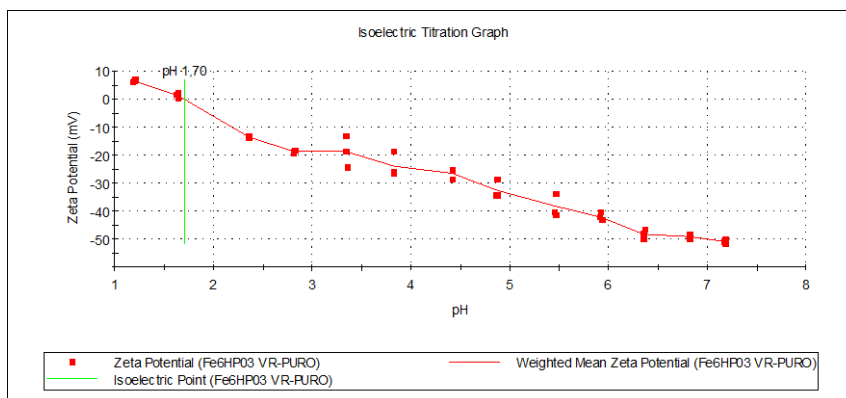


Fig. 4.31. Medidas de potencial Z variando pH. Muestra Fe6HP03.

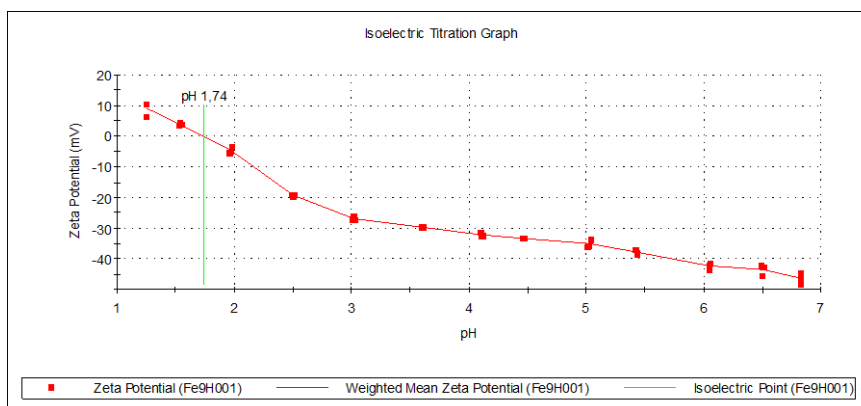


Fig. 4.32. Medidas de potencial Z variando pH. Muestra Fe9HP01.

Como se infiere a partir de las medidas de potencial Z , que ronda los -40 mV, los coloides se encuentran estabilizados por una carga superficial negativa importante. Cabe resaltar que la carga negativa los hace aptos para aplicaciones en remediación ambiental [12-14].

4.3.5 Dispositivo superconductor de interferencia cuántica (SQUID)

El magnetómetro SQUID empleado permite hacer estudios de propiedades magnéticas a bajas temperaturas. Los resultados obtenidos complementan las mediciones hechas por VSM. Los sistemas coloidales fueron estudiados en ciclos ZFC-FC, ciclos M vs H a temperatura constante, y, estudios del campo coercitivo H_c en función de T . Cabe resaltar que se hicieron medidas en suspensión y en material seco obtenido a partir de los coloides, los resultados y discusión se presentan a continuación.

4.3.5.1 Ciclos ZFC-FC

Los ciclos ZFC-FC fueron medidos en muestras encapsuladas, como se explicó en la sección 3.2.5., y secas. Estas últimas se obtuvieron tomando un algodón el cual fue inmerso en el sistema coloidal y se dejó secar a temperatura ambiente durante 24 h.

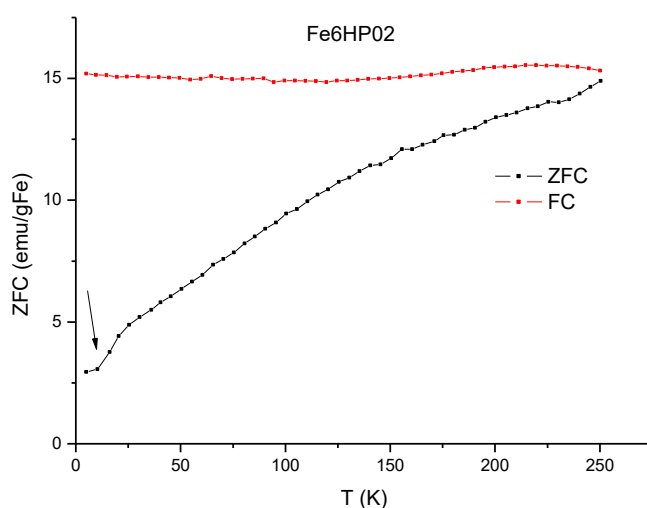


Fig. 4.33. Ciclo ZFC-FC de la muestra Fe6HP02 encapsulada.

Frecuentemente, la medida ZFC-FC realizada sobre NPMs refleja la transición desde un estado de equilibrio a uno fuera del mismo. Ello se debe a situaciones en las que el tiempo típico de relajación τ del momento de NP es menor o mayor que la ventana temporal del experimento, respectivamente. En este sentido corresponde mencionar que la ventana temporal τ_{exp} del SQUID es del orden de 10^2 s. La temperatura a la cual $\tau = \tau_{\text{exp}}$ se conoce como temperatura de bloqueo. Es costumbre referirse al régimen de equilibrio como superparamagnético y al de fuera del equilibrio como bloqueado. Teniendo en cuenta que la transición suele ocurrir por debajo de 273 K (aunque no siempre es así) el coloide suele encontrarse congelado a la temperatura de bloqueo, por lo que sólo puede relajarse por el mecanismo de Néel (Ec. 2.43).

La igualdad $\tau = \tau_{\text{exp}}$ nos permite estimar el tamaño de las NPM. En la Fig. 4.33., se puede observar el ciclo ZFC-FC para la muestra Fe6HP02. En ella se nota que el equilibrio no se alcanza dentro del rango de temperaturas estudiado, es decir la temperatura media de bloqueo satisface $T_B > 250$ K. De aquí se infiere la presencia de partículas grandes que enmascaran la respuesta de las partículas más pequeñas en el sistema coloidal medido. Este fenómeno se puede visualizar en la Fig. 4.34., dónde a partir de la distribución de tamaños (Fig. 4.28) se obtuvo la distribución de volúmenes del sistema Fe/Fe₃O₄@CitNa, en dicha figura se nota la gran contribución de las partículas grandes y la casi nula contribución de las partículas chicas.

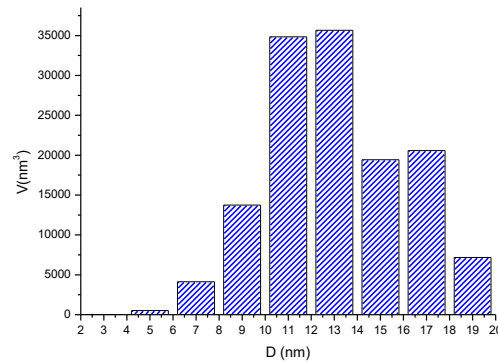


Fig. 4.34. Distribución de volúmenes de la muestra Fe6HP02.

Por otro lado, también se observa un comportamiento anómalo en la magnetización entre los 5 °K y los 20 °K, aproximadamente. Dicho comportamiento se manifiesta en una caída abrupta de la magnetización (cuando T decrece) lo que se refleja como un pico en la derivada del ZFC respecto de T (Fig. 4.35). Este comportamiento fue reportado por G. Muskás et. al., para NPs de magnetita en $T = 20$ K [25-26].

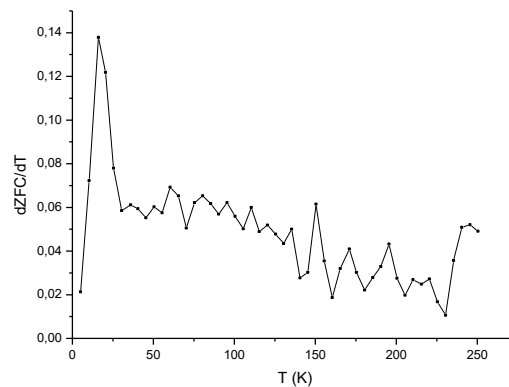


Fig. 4.35. d(ZFC-FC)/dT de la muestra Fe6HP02.

Para explicar el comportamiento de la magnetización a bajas temperaturas se pueden tomar dos enfoques. El primero, va en el sentido de atribuirle dicho comportamiento a las partículas más chicas las cuales se espera que se desbloqueen a bajas temperaturas (ver Ec. 2.43). Sin embargo, y a partir de la Fig. 4.30., se nota que la contribución en volumen de las partículas chicas es mínima, por esta razón se puede asumir el segundo enfoque. En este segundo enfoque, se puede adoptar la interpretación de Muskás et. al., la cual va en el sentido de un nuevo régimen magnético que aparece debido al

desorden propio de la superficie de la nanopartícula, lo que correspondería a una versión particular de partícula tipo *core-shell*. En esta interpretación, el *core* tiene un momento magnético neto propio de la partícula, y el *shell*, corresponde a la capa desordenada superficial (Fig. 4.36). A partir de este modelo, y de las interacciones que se intuyen, Muskas justifica de manera cualitativa el comportamiento anómalo en la magnetización a bajas temperaturas, a esta explicación se han adherido otros trabajos [27-34], aunque cabe resaltar que esta discusión está abierta en este momento y se necesitarían experimentos adicionales a bajas temperaturas, a realizarse en el futuro, para poder explicar de manera satisfactoria lo que sucede por debajo de 20 K.

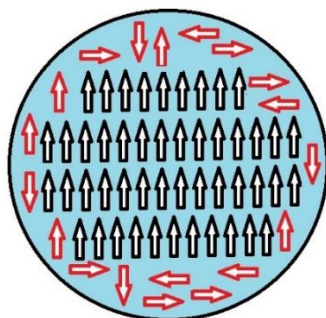


Fig. 4.36. Esquema propuesto por Muskas.

Este comportamiento anómalo a bajas temperaturas se presentó en todas las muestras medidas en esta tesis (ver apéndice 6), y se manifestó tanto en líquidos como en polvos.

4.3.5.2 Ciclos ZFC-FC muestras separación magnética.

Como se mencionó anteriormente, se hizo un experimento de separación magnética con el fin de obtener distintas clases de tamaño a partir de una muestra coloidal madre, en este caso la Fe6HP03. De ella se obtuvieron las muestras separadas Fe6HP03_1 y Fe6HP03_3 según el procedimiento de separación detallado en la sección 3.3. A continuación se presentan dos figuras con las curvas ZFC-FC obtenidas para la Fe6HP01_3 encapsuladas y en polvo (o absorbiendo el coloide en un pequeño trozo de algodón), siguiendo el procedimiento explicado en la sección 3.2.5.

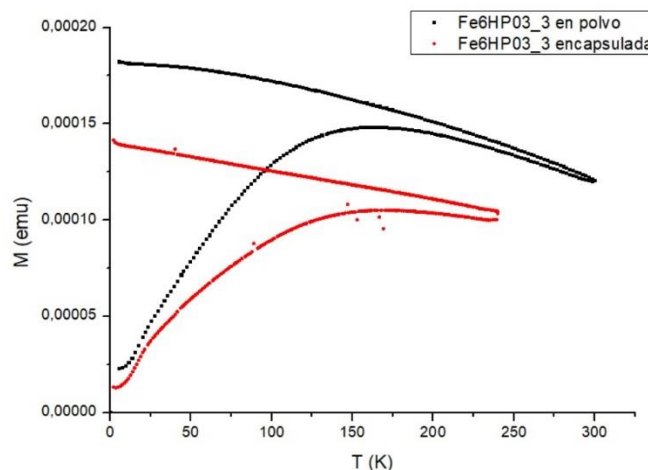


Fig. 4.37. Comparación de la medida ZFC-FC muestra Fe6HP03_3 en polvo y encapsulada sin normalizar.

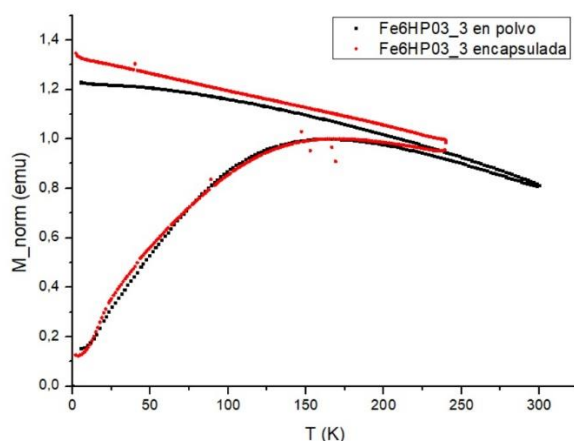


Fig. 4.38. Comparación de la medida ZFC-FC muestra Fe6HP03_3 en polvo y encapsulada normalizada.

Como se observa en las figuras anteriores, el sistema Fe6HP03_3 presenta un máximo en la medida ZFC-FC, lo que indica que las partículas tienen una T_B determinada. La distribución de temperaturas de bloqueo se puede obtener haciendo la derivada de la resta entre ZFC y FC respecto de la temperatura (Fig. 4.39), dicha curva se ajustó con una función logNormal y con los valores de ajuste se obtuvo el valor de la T_B media del sistema. Este procedimiento se hizo para la muestra Fe6HP03_1 con resultados similares. Estas curvas y sus ajustes se pueden ver en el apéndice 6.

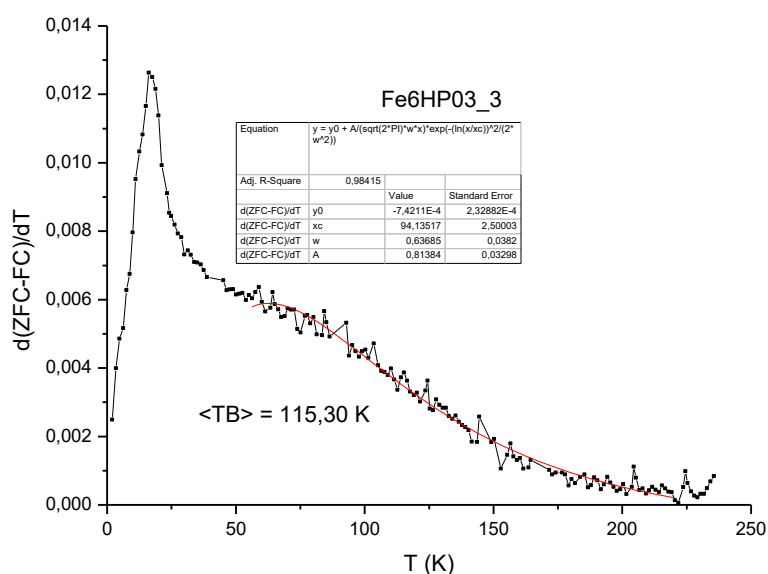


Fig. 4.39. $d(\text{ZFC-FC})/dT$ del coloide Fe6HP03_3 encapsulado.

Con los datos de ajuste obtenidos a se pudo graficar la distribución de temperaturas de bloqueo de las muestras Fe6HP03_1 y Fe6HP03_3, como se muestra a continuación.

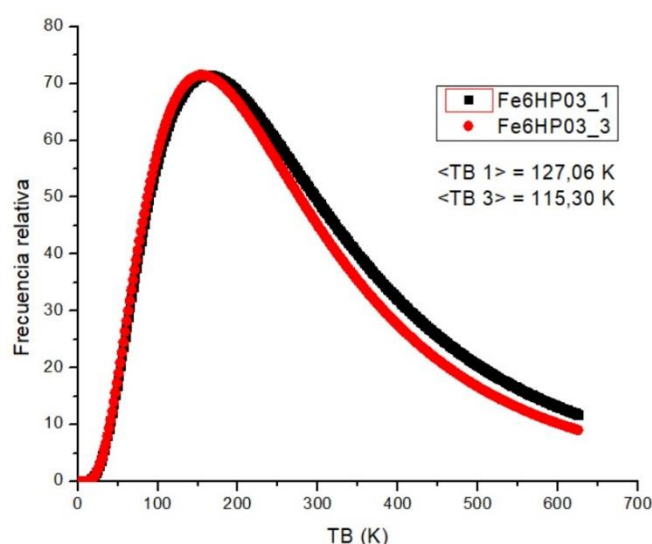


Fig. 4.40. Distribución de las T_B de las muestras Fe6HP03_1 y Fe6HP03_3 encapsuladas.

Como se observa en la figura anterior, la $\langle T_B \rangle$ de la muestra Fe6HP03_1 es mayor, lo que correspondería a tamaños de partícula más grandes. Esto es esperable, ya que dicha muestra estaba más próxima a los imanes, por lo que se esperaba una mayor cantidad de partículas grandes respecto de las partículas de la muestra Fe6HP03_3 que es la que se encontraba en la posición central, y estaba, por tanto, más alejada de los imanes (ver Fig. 3.18).

4.3.5.3 Medidas isotermas M vs H a diferentes temperaturas.

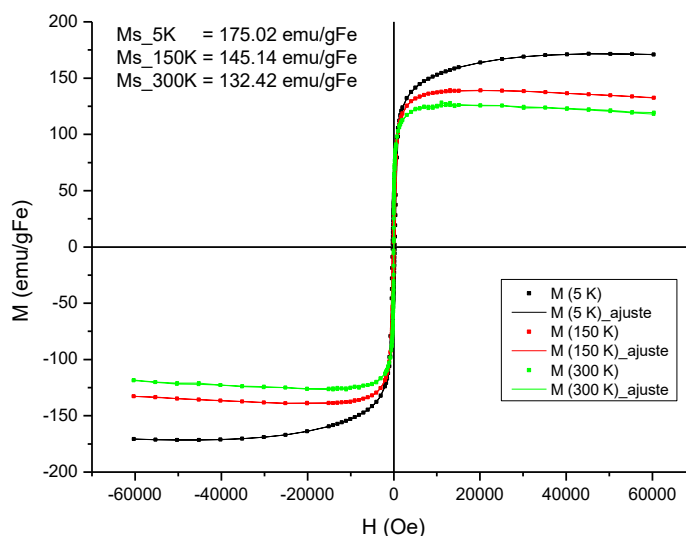


Fig. 4.41. Ciclos a 5 K, 150 K y 300 K.

Una de las facilidades que tiene el dispositivo SQUID, es la posibilidad de hacer medidas M vs H a T constante en un rango amplio de temperaturas. Este tipo de medidas permitió hacer un análisis del campo coercitivo del sistema Fe/Fe₃O₄@CitNa en función de la temperatura. A continuación, se muestran los resultados obtenidos del campo coercitivo para la muestra Fe6HP02. Las curvas medidas se pueden ver en el apéndice 6.

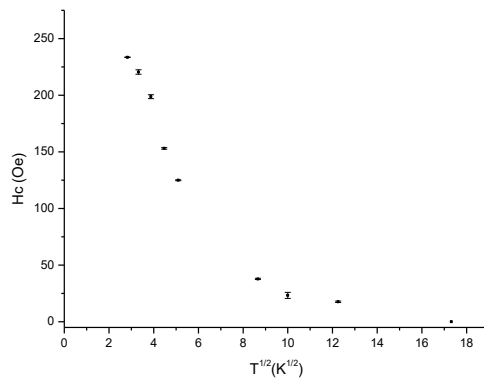


Fig. 4.42. Valores H_c para: 8 K, 15 K, 20 K, 26 K, 75 K, 100 K, 150 K y 300 K.

El objetivo es estimar la temperatura de bloqueo del sistema Fe/Fe₃O₄@CitNa usando la relación $H_c \propto T^\gamma$ donde γ depende del estado de orden orientacional de los ejes fáciles de las MNPs en relación a la dirección del campo aplicado. Si bien $\gamma = \frac{1}{2}$ corresponde al estado con los ejes fáciles paralelos al campo, en la literatura es común adoptar este exponente para sistemas con una distribución aleatoria de orientaciones, aunque en esos casos se corrige la Ec. 2.26 reemplazando H_K por $0.48H_K$ (basándose en el modelo de Stoner-Wohlfarth). La relación empleada fue entonces $H_c = 0.48H_K(1 - (T/T_B)^{1/2})$. Este análisis no fue satisfactorio debido a que, en función de $T^{1/2}$ H_c no se comporta linealmente. Si se hace un análisis con los primeros 4 puntos se obtiene una temperatura de bloqueo de aproximadamente 56 K en desacuerdo con lo observado en el experimento ZFC-FC.

Estrictamente hablando la linealidad sólo se manifiesta en un sistema monodisperso. Como la Ec. 2.26 depende del volumen de NP V , hay una relación lineal, y por ende una T_B para cada tamaño. Sin embargo, como H_c no es una cantidad intensiva no hay un procedimiento directo para incorporar la distribución de tamaños en el análisis. No obstante, la medida hecha a 5 K sirvió para hacer el análisis del SAR en muestras diluidas, lo cual se va a profundizar en la sección 4.3.8.

4.3.6 Difracción de rayos X a bajos ángulos (SAXS)

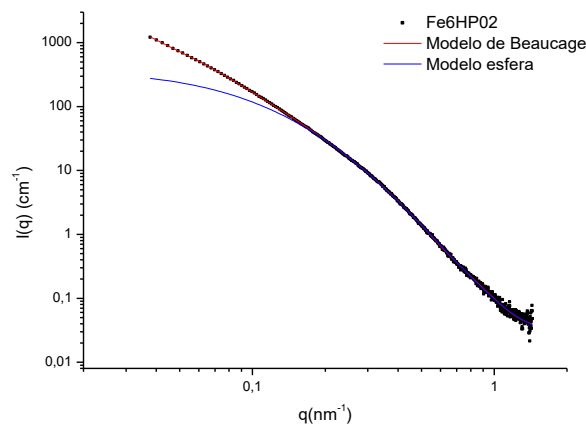


Fig. 4.43. medidas de SAXS en la muestra Fe6HP02.

El estudio por SAXS permitió hacer una estimación alternativa de los tamaños de las NPs en los coloides estabilizados de las muestras Fe6HP02 y Fe9HP01. Los resultados obtenidos se muestran en la Fig. 4.43, que contiene también los tamaños TEM para facilitar la comparación. Los datos de los ajustes se resumen en la siguiente tabla. Las curvas restantes se muestran en el apéndice 7.

Tabla 4.8. Resumen medidas de SAXS.

Muestra	Beaucage			Esferas			TEM		
	x_c (nm)	σ	$\langle d \rangle$ (nm)	x_c (nm)	σ	$\langle d \rangle$ (nm)	x_c (nm)	σ	$\langle d \rangle$ (nm)
Fe6HP02	8.04	0.71	10.33	10.05	0.58	11.90	11.67	0.26	12.04
Fe9HP01	8.59	0.70	11.01	10.04	0.58	11.89	10.65	0.48	11.95

Los parámetros x_c y σ , que son los parámetros de ajuste de la distribución logNormal, pudieron ser calculados a partir de las ecuaciones 3.8 y 3.9 de acuerdo a lo reportado en la Ref. [35], para el caso de los valores obtenidos para el TEM fueron los que arrojó el ajuste hecho con el programa Origin 8.0. A continuación se presentan las distribuciones de tamaño obtenidas a partir de los datos calculados. Se agrega la curva de los diámetros magnéticos (D_m) para efectos comparativos.

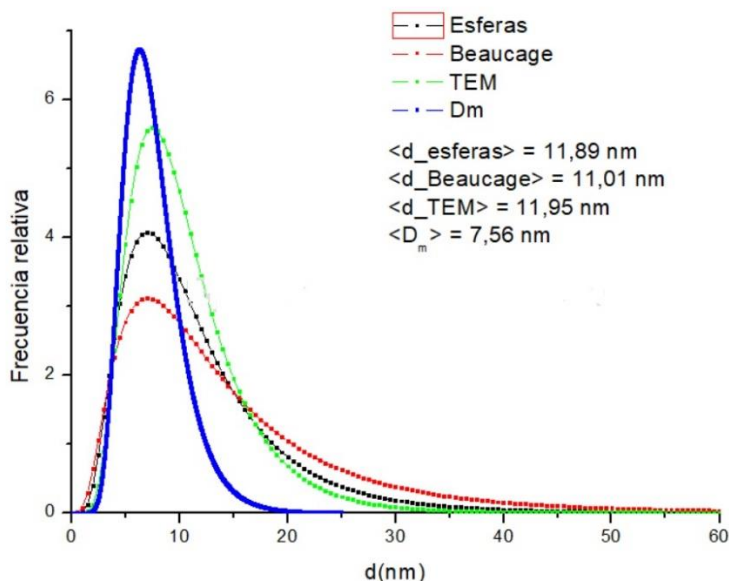


Fig. 4.44. Comparación entre las distribuciones de tamaño obtenidas por SAXS y la obtenida por TEM en la muestra Fe6HP02.

A partir de las distribuciones de tamaño que se observan en la figura anterior, se evidencia una alta polidispersidad lo cual es propio de los sistemas obtenidos por mecanosíntesis, sin embargo, el tamaño medio está alrededor de los 11 nm. Cabe resaltar que ese valor fue medido a partir de dos modelos de ajuste para el SAXS y por conteo de partículas medidas por TEM por lo que dicho rango de valores medios se puede tomar como característico para el sistema Fe/Fe₃O₄@CitNa, esto se comprobó en las muestras Fe6HP02 y Fe9HP01.

4.3.7 Dispersión dinámica de luz (DLS)

Las medidas de dispersión de luz (DLS) permiten conocer el diámetro hidrodinámico, que es el valor necesario para conocer el tiempo de relajación de Brown, y el índice de polidispersidad de un coloide.

Para este análisis se midieron las muestras Fe9HP01, Fe6HP03_pura, Fe6HP03_1 y Fe6HP03_3, siendo las 3 últimas las que se usaron para hacer la separación magnética que se explicará en el siguiente capítulo. A continuación, se presenta un ajuste el cual se hizo sobre los resultados de la muestra Fe9HP01.

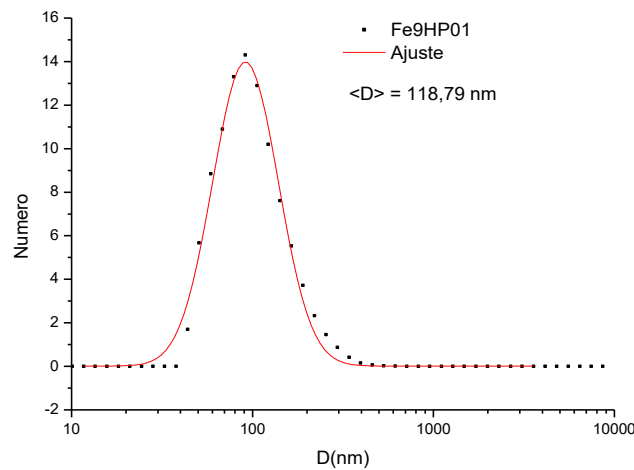


Fig. 4.45. Medidas de DLS en la muestra Fe9HP01. Se ajustó con una función LogNormal con parámetros $X_c = 108.7$ y $\sigma = 0.41$.

Como se explicó en el capítulo 3, el tiempo de relajación de Brown se puede calcular con la expresión: $\tau_B = \frac{3\eta V_H}{k_B T}$, donde V_H , η , k_B y T son el volumen hidrodinámico, viscosidad del agua, constante de Boltzmann y la temperatura, respectivamente. El volumen hidrodinámico se calculó a partir del diámetro medio obtenido en los ajustes de las medidas de DLS, además, se usó una temperatura de 20 °C y los valores de las constantes correspondientes a dicha temperatura (ver tabla 4.8). A partir de esos datos se obtuvo el τ_B para la muestra Fe9HP01 cuyo valor es de 7.16×10^{-4} s. También se calcula el τ_N , con la expresión: $\tau_N = \tau_0 e^{K_{eff} V / k_B T}$, para efectos comparativos con τ_B . En la expresión anterior K_{eff} , V , k_B y T , son la constante de anisotropía efectiva del hierro, el volumen de la partícula, la constante de Boltzmann y una temperatura de 295 K, respectivamente. En la tabla 4.8 se resumen los resultados obtenidos.

Las constantes usadas para el cálculo de τ_N se tomaron de la Ref. [8]. En ese trabajo se reportaron cálculos de este tipo para un sistema Fe/Fe₃O₄ con tamaños en el rango de los 5 nm y los 30 nm. Dichas constantes utilizadas fueron: $K_{eff} = 4.8 \times 10^4$ J/m³ y $\tau_0 = 5 \times 10^{-11}$ s y se usó la expresión $\tau_N = \tau_0 e^{\frac{K_{eff} V}{k_B T}}$.

Tabla. 4.9. Resumen medidas DLS

Muestra	Índice de polidispersidad	Diámetro hidrodinámico (nm)		τ_B (s) ^a	Diámetro medio (nm)	τ_N (s)
		S.F.*	C.F.**			
Fe6HP02	--	--	--	--	12.0	2.6×10^{-6}
Fe9HP01	0.2	118.8	--	1.4×10^{-3}	12.0	2.6×10^{-6}
Fe6HP03_pura	0.5	--	43.4	7.0×10^{-5}	18.7	1.8×10^7
Fe6HP03_1	0.2	--	41.3	6.0×10^{-5}	15.2	1.5×10^{-1}
Fe6HP03_3	0.5	86.0	--	5.4×10^{-4}	14.1	1.5×10^{-3}
Fe9HP03	0.5	--	35.0	3.7×10^{-5}	15.4	3.4×10^{-1}
Fe12HP03	0.6	70.80	--	3.0×10^{-4}	16.4	34.3

*Muestras sin filtrar. **Muestras filtradas. ^a Los valores usados para calcular τ_B fueron: $\eta = 1.102 \times 10^{-3}$ Pa.s, $k_B = 1.38 \times 10^{-23}$ J/K, $T = 293.15$ K y V_H se calculó a partir del diámetro hidrodinámico y suponiendo partículas o agregados esféricos.

Los resultados obtenidos para los coloides parecen dividirse en tres grupos según los τ_B y los τ_N . El primer grupo, es el de las muestras que tienen un mayor valor de SAR (Fe6HP02 y Fe9HP01, ver tabla 4.9) y donde el τ_N es menor y por lo tanto dominante. Después vienen las muestras con diámetros entre 15 – 16 nm, donde los τ_N son más grandes que los τ_B en 3 o 4 órdenes de magnitud, y, por último, está la muestra Fe6HP03_pura que tiene un τ_N con un valor superior a 10 millones de s y es la que tiene el menor valor de SAR. Para reforzar la idea de la gran variación en el τ_N debido a la polidispersidad del sistema Fe/Fe₃O₄@CitNa obtenido en esta tesis doctoral, se hizo el ejercicio de tomar los valores de cada barra del histograma de la Fig. 4.28., y calcular, así, el tiempo de relajación, esto se muestra a continuación.

Diámetro (nm)	τ_N (s)	Área relativa (nm ²)
3	5.9×10^{-11}	28.4
5	1.1×10^{-10}	628.4
7	4.2×10^{-10}	3.5×10^3
9	4.6×10^{-9}	9.2×10^3
11	2.0×10^{-7}	1.9×10^4
13	4.2×10^{-5}	1.6×10^4
15	6.4×10^{-2}	7.6×10^3
17	9.0×10^2	7.2×10^3
19	1.6×10^8	2.3×10^3

Como se observa a partir de los resultados calculados en el ejercicio anterior, el tamaño límite aproximado para que la relajación de Néel sea dominante sobre la de Brown está cerca de 13 nm, esto trae como consecuencia que para diámetros superiores a este valor, el τ_B sea dominante. Estos resultados reafirman la necesidad de encontrar un método de separación magnética más adecuado en el futuro para así sacar mayor provecho de los coloides obtenidos por mecanosíntesis, los cuales tienen una gran polidispersidad.

Por último, se hizo un cálculo adicional para encontrar el diámetro crítico para el cual τ_N era igual al menor valor de τ_B encontrado en los anteriores sistemas coloidales con las constantes reportadas en los párrafos anteriores. El objetivo de este cálculo era estimar un tamaño crítico a partir del cual la relajación por Néel es dominante sobre la de Brown, el diámetro encontrado es de 12.95 nm. Este valor nos indica que solo dos de coloides obtenidos tienen una relajación de Néel dominante, los cuales, además, son los que tienen mayor valor de SAR como se verá en la siguiente sección.

4.3.8 Velocidad específica de absorción (SAR)

Uno de los objetivos principales de esta tesis era obtener un sistema coloidal estable que tuviese una alta magnetización de saturación para potenciales aplicaciones en hipertermia magnética (HM). Por esa razón, y después de haber comprobado la estabilidad, tamaño nanométrico y alta M_s con las caracterizaciones anteriores, se hicieron las medidas para obtener el valor del SAR en el sistema Fe/Fe₃O₄@CitNa con el equipo que se describió en la sección 3.2.10. Para este fin se usaron los coloides estables denotados Fe6HP02, Fe6HP03 y Fe9HP01, para las cuales se usaron relaciones de masas, para la obtención del núcleo de Fe por mecanoquímica, 1:16, 1:24 y 1:12, respectivamente.

El estudio del SAR se hizo en primera instancia midiendo a una frecuencia constante de 260 kHz y variando el campo magnético RF aplicado, posteriormente se hizo un estudio variando la frecuencia a campo constante, y finalmente se hizo una curva de calentamiento para buscar la temperatura de estacionaria final del sistema. Los resultados de estos experimentos en hechos con la muestra Fe6HP02 se muestran a continuación.

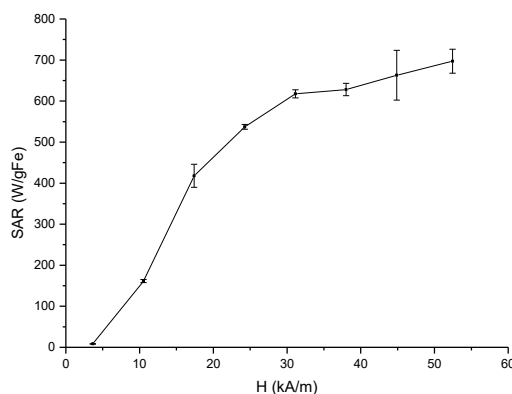


Fig. 4.46. Medidas de SAR variando campo aplicado en la muestra Fe6HP02.

De la Fig. 4.46., se infiere que hay una relación creciente entre el campo aplicado y el valor de SAR medido, en acuerdo cualitativo con la Ec. 2.36. Aunque crece continuamente con el campo, para $H > 40$ kA/m el SAR tiende a saturar en un valor mayor o igual a 700 W/gFe. Los valores de SAR medidos en la muestra Fe6HP02 son comparables con los reportados en las Ref. [8, 20]. En el primer estudio (Ref. [8]), el valor máximo está cercano a los 850 W/g para un campo de 58.1 kA/m y una frecuencia de 274 kHz, para un sistema Fe/Fe₃O₄ obtenido por descomposición organometálica, donde se obtuvieron núcleos de Fe a los cuales se les creció una capa

de magnetita en un ambiente rico en O₂ (Tamaño final de 11.3 nm). Cabe resaltar que en la Ref. [8] se hace un estudio muy completo del SAR en función del tamaño de las NPM (rango de tamaños entre 5 – 30 nm). Para el caso de la Ref. [36], el estudio se hace con una frecuencia de 250 kHz y campos bajos, del orden de 11.2 kA/m, con un valor de SAR reportado de 188 W/g, comparable a los 165 W/gFe observados en la muestra Fe6HP02 para un valor de campo similar. Por otro lado, se estudió la relación entre la frecuencia y el SAR a campo constante, los resultados obtenidos se presentan en la Fig. 4.47.

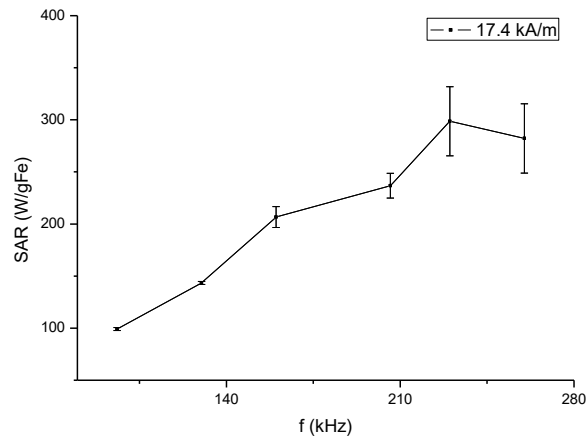


Fig. 4.47. Medidas SAR variando f y a campo constante (17.4 kA/m) en la muestra Fe6HP02.

De la figura anterior, se puede inferir, dentro del error experimental, que el SAR crece a medida que se aumenta la frecuencia y parece tender asintóticamente hacia la saturación. Por último, se presenta una curva de calentamiento en la muestra Fe6HP02. Cabe resaltar que dicha medida se hizo 6 meses después de la estabilización, por lo que también sirve también como un parámetro para inferir el envejecimiento y la estabilidad de la muestra. Con el dT/dt obtenido en la medida de la Fig. 4.49., se obtuvo un SAR de 728 W/gFe que es comparable con el valor medido en los experimentos variando campo (Fig. 4.46).

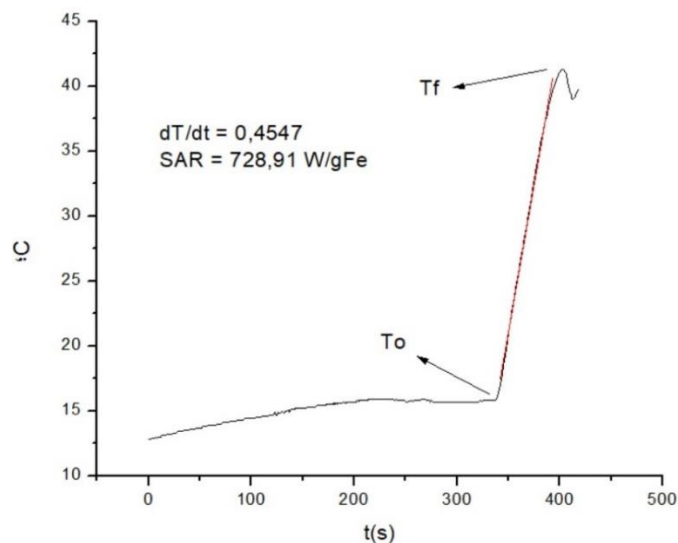


Fig. 4.48. Curva de saturación de la muestra Fe6HP02 con una $f = 260$ kHz y $H = 52.44$ kA/m.

Se debe aclarar que en este experimento no se alcanzó la temperatura de saturación debido a que el experimento fue cortado a los 40 °C para preservar el coloide. Se destaca el alto valor en el dT/dt el cual es de casi 0.5 °C/s lo que se ve reflejado en el alto valor de SAR obtenido. En la siguiente tabla se presentan los valores máximos de SAR en los sistemas coloidales medidos y las curvas restantes pueden ser observadas en el apéndice 9.

No se observa ninguna correlación entre los valores de SAR y el mecanismo de relajación (Néel o Brown). En tal sentido debe tenerse en cuenta que los valores τ_B y τ_N reportados en la tabla 4.9 son valores medios de una distribución considerablemente ancha. De modo que para cada muestra habrá una fracción de NPs que relaje por Néel y otra que relaje por Brown, para tamaños por debajo y encima de un valor crítico en el cual $\tau_B = \tau_N$. Entonces no puede hacerse una distinción neta basada en el mecanismo de relajación. Sería adecuado (pero quedará para el futuro) hacer un análisis basado en la evaluación de tales fracciones, obtenidas de los parámetros de cada distribución.

Tabla. 4.10. Valores máximos de SAR medidos en los sistemas estabilizados

Muestra	SAR (W/gFe)	error
Fe6HP02	697.2	29.0
Fe6HP03	346.8	4.9
Fe9HP01	492.8	8.0

4.3.8.1 Estudios del SAR en muestras diluidas

Los estudios en muestras diluidas se hicieron para mejorar la comprensión del comportamiento del sistema coloidal bajo la acción de un campo magnético RF. Se sabe que las interacciones dipolares pueden dar lugar a una modificación importante de la respuesta magnética de las NPMs. En coloides ha sido reportado que estas interacciones ocasionan la formación de cadenas y anillos de nanopartículas, o estructuras más complejas, dependiendo de las características del sistema y de la amplitud del campo aplicado [37 - 41]. La reducción de la concentración del coloide es un intento de disminuir sustancialmente la intensidad de las interacciones dipolares y obtener resultados en los que dominen las propiedades intrínsecas de las NPMs. En la Tabla 4.11., se resumen los valores máximos obtenidos para cada una de las diluciones medidas durante este experimento, las cuales se obtuvieron a partir de la muestra Fe6HP02. Las curvas medidas del SAR en función del campo se encuentran en la Fig. 4.46.

Tabla 4.11. Valores máximos de SAR para cada una de las muestras medidas

Muestra	[x] (mg(Fe)/mL)	SAR (W/gFe)	error
1:1	2.6	697.2	29.0
1:2	1.3	717.2	21.2
1:5	0.5	766.0	20.1
1:8	0.3	765.8	19.0
1:11	0.2	760.1	10.5
1:21	0.1	976.3	17.4
1:31	0.09	1178.3	19.2

Como se observa en la Fig. 4.49., hay un crecimiento marcado a medida que la muestra se hace más diluida, lo cual puede deberse a la disminución de las interacciones dipolares. El resultado sugiere que en las muestras más concentradas se forman asociaciones de MNPs en las que predominan efectos desmagnetizantes, reduciendo la susceptibilidad de equilibrio, o alejando el tiempo de relajación efectivo de NPM de la condición óptima $\tau = 1/\omega$ (ver Ec. 2.40).

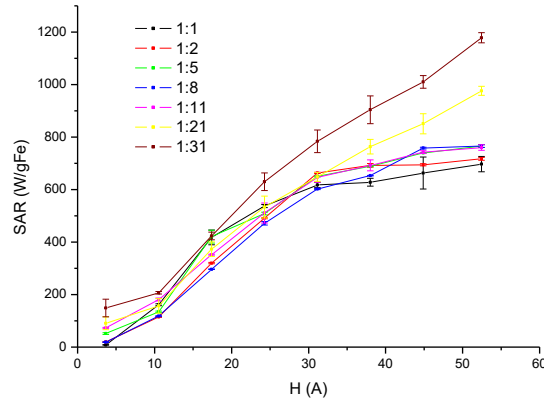


Fig. 4.49. Comparación medidas SAR variando campo para una muestra pura y diluciones de la misma.

Como se infiere a partir del gráfico anterior (Fig. 4.49), los valores más altos de SAR se obtuvieron en las muestras más diluidas. Dichas muestras deberían tener interacciones dipolares menores, ya que uno de los parámetros que afecta dichas interacciones es la concentración [37].

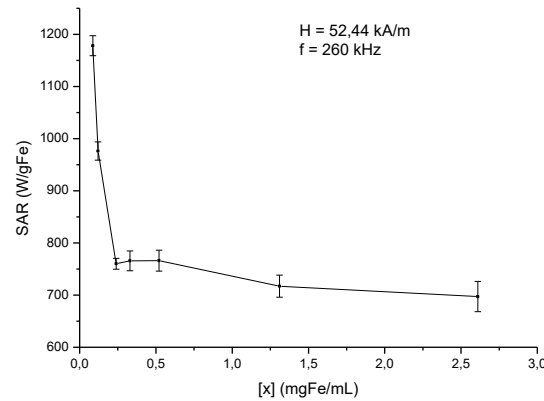


Fig. 4.50. Comparación medidas SAR en función de la concentración a campo y frecuencia máximas. Las curvas restantes están en el apéndice 10.

Por otro lado, existe un estudio muy completo de Conde-Leboran et. al. [42], dónde se hace un estudio del SAR de NPs de magnetita en función de la concentración (Fig. 4.51). En dicho estudio proponen un modelo para predecir el SAR en función del cociente entre el campo aplicado y el campo de anisotropía, con lo que logran predecir la condición en la cual se obtiene el valor máximo de SAR, para ello se debe cumplir la condición ($H_{apl}/H_A \geq 3$). Usando este modelo, calculando $H_A = 2K_{mc}/M_s$ ($K_{mc} = 450 \text{ J/m}^3$ y $M_s = 175.02 \text{ a } 5 \text{ K}$), como se define en [35], y considerando el campo aplicado en los

experimentos mostrados en la Fig. 4.50., $H_{apl} = 52.4 \text{ kA/m} = 658.5 \text{ Oe}$, se obtiene $H_{apl}/H_A = 0.67$ el cual predice el comportamiento dado por la curva magenta en Fig. 4.42 ($H_{MAX}/H_A = 0.6$) que presenta características similares mostrados en la Fig. 4.50.

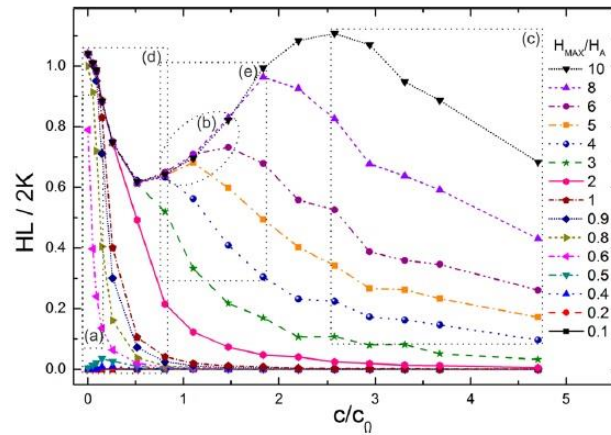


Fig. 4.51. Estudio del SAR en función de la concentración para diferentes relaciones H_{MAX}/H_A . Tomado de Ref. 35.

En nuestro caso, para poder encontrar el máximo en el SAR tendríamos que ir a campos más altos, los cuales no son accesibles con el equipo que tenemos a disposición.

4.3.9 Pruebas de viabilidad celular

Una de las pruebas más importantes, como se explicó en el capítulo 3, es la de viabilidad celular. En la presente tesis se abordó este estudio mediante la interacción de concentraciones crecientes de coloide C (en $\mu\text{gFe/mL}$) con la línea celular de melanoma murino B16, y la cuantificación posterior mediante la técnica de MTT. La primera medida se hizo con el coloide estabilizado original. Los resultados con la muestra Fe9HP01 fueron:

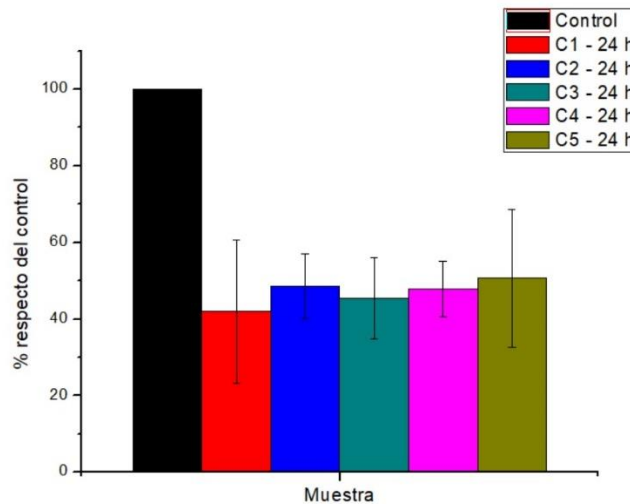


Fig. 4.52. Viabilidad celular del sistema Fe9HP01. Las concentraciones fueron: C1 = 30 $\mu\text{gFe/mL}$, C2 = 90 $\mu\text{gFe/mL}$, C3 = 116 $\mu\text{gFe/mL}$, C4 = 250 $\mu\text{gFe/mL}$, C5 = 500 $\mu\text{gFe/mL}$. Todos los sistemas fueron medidos luego de 24 h.

Como se observa en la gráfica anterior, los porcentajes de viabilidad celular son muy bajos y con una gran dispersión en algunos casos (dada por la línea negra delgada vertical). Dichos porcentajes están casi todos por debajo del 50%. Este resultado motivó un tratamiento adicional para eliminar posibles núcleos de Fe desnudo, o estabilizados parcialmente, además de poder eliminar posibles átomos de Cl y Na remanentes de las etapas de recubrimiento con magnetita y estabilización con citrato de sodio, respectivamente. Por último, este procedimiento permitió llevar el coloide a un pH fisiológico, en este caso, para la muestra Fe9HP01_clean el pH final fue de 7.23. El procedimiento de lavados aplicado consistió en la centrifugación de una mezcla con acetona en relación 1:2 respecto del coloide a 5000 rpm por 3 min. Posteriormente se descartó el sobrenadante y se dejó en una estufa a 37 °C durante 1 h, a continuación, se resuspendió la muestra en el volumen inicial de agua. A este nuevo sistema denominado Fe9HP01_clean se le hizo una nueva medida de viabilidad celular, la cual arrojó los resultados mostrados en la Fig. 4.53. En esta figura, se evidencia un aumento importante de la viabilidad celular después de este procedimiento adicional, llegándose a valores cercanos al 80% que permite, en principio, que el sistema Fe/Fe₃O₄@CitNa pueda usarse en aplicaciones biomédicas.

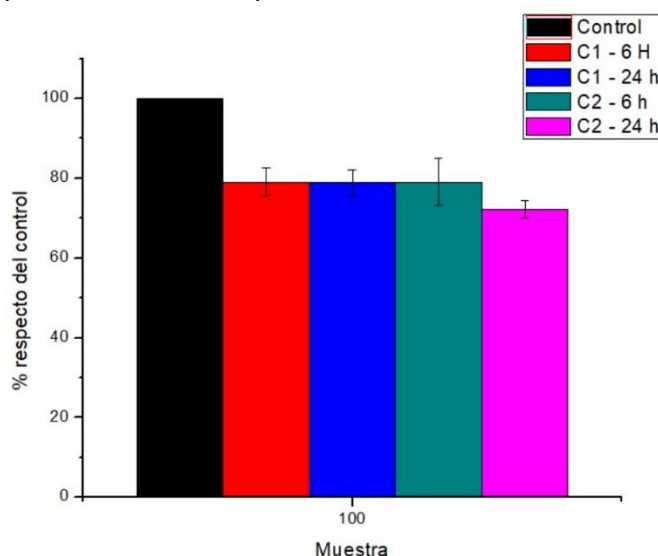


Fig. 4.53. Viabilidad celular del sistema Fe9HP01. Las concentraciones fueron: C1 = 116 µgFe/mL, C2 = 250 µgFe/mL.

Por otro lado, y para cerrar las pruebas de citotoxicidad, se hizo interactuar un sistema de NPs con la línea celular B16 para verificar que estas fueran internalizadas. Este proceso consiste en hacer observaciones TEM y mediciones M vs H de un número conocido de células internalizadas con NPs (Fig. 4.53). El ciclo obtenido es ajustado y se obtiene el momento magnético de saturación de la muestra en emu. Conocido este valor y la M_s en emu/gFe se puede obtener la masa de NPs por célula. Con este procedimiento se obtuvo como resultado que se internalizaron 1.3 pgFe/célula en un cultivo de 1.5x10⁶ células usando un coloide con una concentración de 116 µg/mL. En la Fig. 4.54, se muestra el ciclo M vs. H del cultivo internalizado.

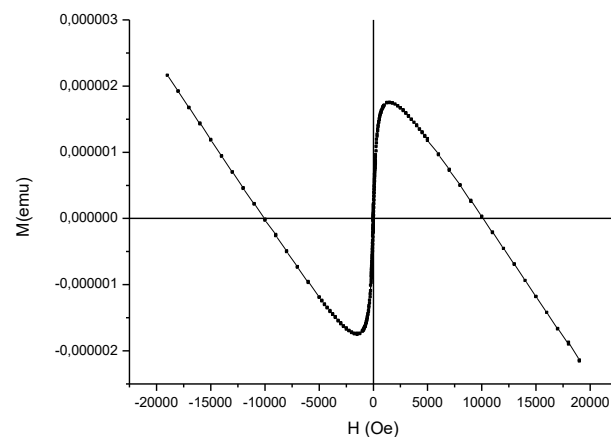


Fig. 4.54. Ciclo M vs H de las células internalizadas con el sistema Fe6HP02.

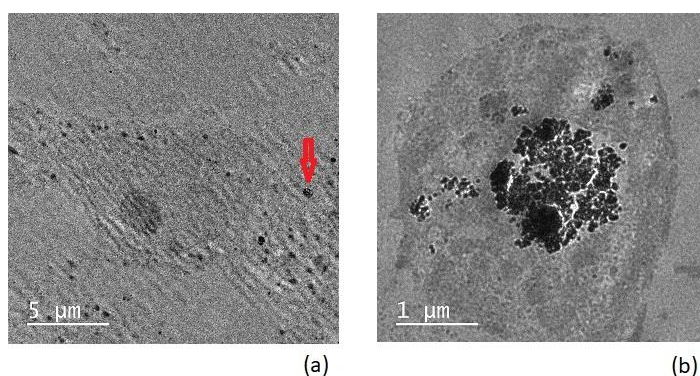


Fig. 4.55. Internalización de NPs en una célula. (a) Vista del núcleo de la célula con NPs en el citoplasma. (b) NPs adheridos a los endosomas.

Se debe destacar que el sistema con el que se internalizaron las células fue el sistema Fe6HP02, el cual da un porcentaje del 35% de viabilidad celular (Fig. 4.56). Sin embargo, el sistema logró ingresar al citoplasma y fijarse en algunos endosomas como se ve en la Fig. 4.55(b), por lo que se espera que el sistema Fe9HP01_clean tenga mejores resultados, pero esta hipótesis debe ser comprobada en el futuro.

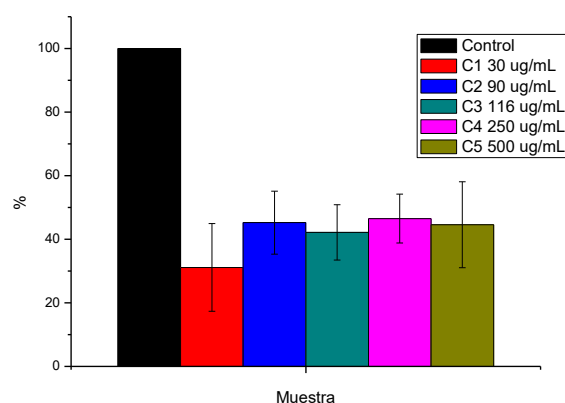


Fig. 4.56. Viabilidad celular del sistema Fe6HP02.

4.4 Referencias

- [1] T. Tsuzuki, P. G. McCormick. "Mechanochemical synthesis of nanoparticles". *Journal of Materials Science*. Volume 39. Págs: 5143 – 5146. 2004.
- [2] J. Ding, W. F. Miao, P. G. McCormick, R. Street. "Mechanochemical synthesis of ultrafine Fe powder". *Applied Physics Letters*. Volume 67. 1995.
- [3] P. G. McCormick, T. Tsuzuki, J. S. Robinson, J. Ding. "Nanopowders Synthesized by mechanochemical Processing". *Advanced Materials*. Volume 13. 2001.
- [4] Y. Todaka, P. G. McCormick, K. Tsouchiya, M. Umemoto. "Synthesis of Fe-Cu nanoparticles by mechanochemical processing using ball milling". *Material Transactions*. Volume 43. Págs: 667 – 673. 2002.
- [5] T. Furubayashi, I. Nakatani. "Mössbauer studies of colloidal ultrafine particle helln". *IEEE Transactions on magnetics*. Vol. 26. No. 5. 1990.
- [6] N. Greenwood, T. C. Gibb. "Mössbauer Spectroscopy". Chapman and Hall. First edition. 1971.
- [7] J. Crangle and G. M. Goodman. "The Magnetization of Pure Iron and Nickel". *Proc. R. Soc. Lond.* Vol. 321. 477-491. 1971.
- [8] B. Mehdaoui, A. Meffre, J. Carrey, S. Lachaize, L. M. Lacroix, M. Gougeon, B. Chaudret, M. Respaud. "Optimal Size of Nanoparticles for Magnetic Hyperthermia: A Combined Theoretical and Experimental Study". *Adv. Funct. Mater.* Vol. 21, 4573–4581. 2011.
- [9] B. Yang, X. Li, X. Yang, R. Yu. "Chemical synthesis of Fe/Fe₃O₄ core-shell composites with enhanced soft magnetic performances". *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. Vol. 428. 6–11. 2017.
- [10] J. Shena, Y. Zhanga, H. Yanga, Y. Yanga, Z. Zhoua, S. Yanga. "Detection of melamine by a magnetic relaxation switch assay with functionalized Fe/Fe₃O₄ nanoparticles". *Sensors and Actuators B*. Vol. 203. 477–482. 2014.
- [11] E. Bonetti, L. Del Bianco, S. Signoretti. "Synthesis by ball milling and characterization of nanocrystalline Fe₃O₄ and Fe/Fe₃O₄ composite system". *J. Appl. Phys.* Vol. 89. No. 3. 2001.
- [12] W. Zhang. "Nanoscale iron particles for environmental remediation: An overview". *Journal of Nanoparticle Research*. Vol. 5. 323–332. 2003.
- [13] X. Li, D. W. Elliott, W. Zhang. "Zero-Valent Iron Nanoparticles for Abatement of Environmental Pollutants: Materials and Engineering Aspects". *Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences*. Vol. 31. 111–122. 2006.
- [14] A. B. Cundy, L. Hopkinson, R. L. D. Whitby. "Use Core/shell-based technologies in contaminated land and groundwater remediation: A review". *Science of the total environment*. 42 – 51. 2008.
- [15] H. Khurshid, C. G. Hadjipanayis, H. Chen, W. Li, H. Mao, R. Machaidze, V. Tzitzios, G. C. Hadjipanayis. "Core/shell structured iron/iron-oxide nanoparticles as excellent MRI contrast enhancement agents". *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. Vol. 331. 17–20. 2013.
- [16] A. Shavel, B. Rodríguez-González, M. Spasova, M. Farle, L. M. Liz-Marzán. "Synthesis and Characterization of Iron/Iron Oxide Core/Shell Nanocubes". *Adv. Funct. Mater.* 1–7. 2007.
- [17] B. D. Cullity, C. D. Graham. "Introduction to magnetic materials". John Wiley and Sons. 2009.

- [18] M. Jesenik, A. Hamler, P. Kitak, M. Trlep. "Parameters for expressing an analytical magnetization curve obtained using a genetic algorithm". *Compumag* 2013. Budapest. 2013.
- [19] M. E. L. de Sousa. "Nanopartículas magnéticas para hipertermia intracelular: sensibilidad de células A549". Tesis doctoral. 2014.
- [20] Z. Nemati, J. Alonso, H. Khurshida, M. H. Phana, H. Srikanth. "Core/shell iron/iron oxide nanoparticles: ¿Are they promising for magnetic hyperthermia?". *J. Name*. 1-3. 2013.
- [21] W. E. Mahmoud, L. M. Bronstein, F. Al-Hazmi, F. Al-Noaiser, A. A. Al-Ghamdi. "Development of Fe/Fe₃O₄ Core-Shell Nanocubes as a Promising Magnetic Resonance Imaging Contrast Agent". *Langmuir*. Vol. 29, 13095–13101. 2013.
- [22] Q. Zeng, I. Baker, J. A. Loudis, Y. Liao, P. J. Hoopes, J. B. Weaver. "Fe/Fe oxide nanocomposite particles with large specific absorption rate for hyperthermia". *Applied Physics Letters*. Vol. 90. 233112. 2007.
- [23] Ficha cristalográfica del hierro metálico.
- [24] Ficha cristalográfica de la magnetita.
- [25] G. Muscas, G. Concas, C. Cannas, A. Musinu, A. Ardu, F. Orrù, D. Fiorani, S. Laureti, D. Rinaldi, G. Piccaluga, D. Peddis. "Magnetic Properties of Small Magnetite Nanocrystals". *J. Phys. Chem. C*. Vol. 117. 23378–23384. 2013.
- [26] G. Muskas. "Tuning the magnetic anisotropy in nanostructured magnetic oxides". Tesis doctoral. 2014.
- [27] M. E. F. Brollo, R. López-Ruiz, D. Muraca, S. J. A. Figueroa, K. R. Pirota, M. Knobel. "Compact Ag@Fe₃O₄ Core-shell Nanoparticles by Means of Single-step Thermal Decomposition Reaction". *Nature: scientific reports*. Vol. 4. 6838. 2014.
- [28] H. M. Song, J. I. Zinkb, N. M. Khashab. "Seeded growth of ferrite nanoparticles from Mn oxides: observation of anomalies in magnetic transitions". *Phys Chem Chem Phys*. Vol. 17. 18825-33. 2015.
- [29] J. M. Orozco-Henao, D. F. Coral, D. Muraca, O. Moscoso-Londoño, P. Mendoza Zélis, M. B. Fernandez van Raap, S. K. Sharma, K. R. Pirota, M. Knobel. "Effects of Nanostructure and Dipolar Interactions on Magnetohyperthermia in Iron Oxide Nanoparticles". *J. Phys. Chem. C*. Vol. 120. 12796–12809. 2016.
- [30] B. Issa, I. M. Obaidat, B. A. Albiss, Y. Haik. "Magnetic Nanoparticles: Surface Effects and Properties Related to Biomedicine Applications". *Int. J. Mol. Sci*. Vol. 14. 21266-21305. 2013.
- [31] A. E. Berkowitz, R. H. Kodama, S. A. Makhlof, F. T. Parker, F. E. Spada, E. J. McNiff, S. Foner. "Anomalous properties of magnetic nanoparticles". *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. Vol. 196. 591-594. 1999.
- [32] K. Lee, J. Jang, H. Nakano, S. Nakagawa, S. H. Paek, S. Bae. "External magnetic field dependent shift of superparamagnetic blocking temperatura due to core/Surface disordered spin interactions". *Nanotechnology*. Vol. 28. 075710-7. 2017.
- [33] B. Martínez, X. Obradors, Ll. Balcells, A. Rouanet, C. Monty. "Low Temperature Surface Spin-Glass Transition in g-Fe₂O₃ Nanoparticles". Vol. 80. Number 1. 1-4. 1998.
- [34] R. H. Kodama. "Magnetic nanoparticles". *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. Vol. 200. 359-372. 1999.
- [35] G. Beaucage, H. K. Kammler, S. e. Pratsinis. "Particle sizes distributions from small-angle scattering using global scattering functions". *J. Applied. Cryst*. Vol. 37. 523-535. 2004.

- [36] Q. Zeng, I. Baker, J. A. Loudis, Y. Liao, P. J. Hoopes, J. B. Weaver. "Fe/Fe oxide nanocomposite particles with large specific absorption rate for hyperthermia". *Applied Physics Letters*. Vol. 90. 233112. 2007.
- [37] F.H. Sánchez, P. Mendoza Zélis, M.L. Arciniegas, G.A. Pasquevich, M.B. Fernández van Raap. "Dipolar interaction and demagnetizing effects in magnetic nanoparticle dispersions: introducing the Mean Field Interacting Superparamagnet Model (MFISP Model)". *Physical Review B*. Vol. 95. 134421. 2017.
- [38] P. Poulin, H. Stark, T. C. Lubensky, D. A. Weitz. "Novel Colloidal Interactions in Anisotropic Fluids". *Science*. Vol. 275. 1997.
- [39] M. Klokkenburg, C. Vonk, E. M. Claesson, J. D. Meeldijk, B. H. Erne, A. P. Philipse. "Direct Imaging of Zero-Field Dipolar Structures in Colloidal Dispersions of Synthetic Magnetite". *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 126. 16706-16707. 2004.
- [40] A. Yethiraj, A. van Blaaderen. "A colloidal model system with an interaction tunable from hard sphere to soft and dipolar". *Nature*. Vol. 421. 2003.
- [41] K. Butter, P. H. H. Bomans, P. M. Frederik, G. J. Vroege, A. P. Philipse. "Direct observation of dipolar chains in iron ferrofluids by cryogenic electron microscopy". *Nature materials*. Vol. 2. 2003.
- [42] I. Conde-Leboran, D. Baldomir, C. Martinez-Boubeta, O. Chubykalo-Fesenko, M. Del Puerto Morales, G. Salas, D. Cabrera, J. Camarero, F. J. Teran, D. Serantes. "A Single Picture Explains Diversity of Hyperthermia Response of Magnetic Nanoparticles". *J. Phys. Chem. C*. Vol. 119 (27). 15698–15706. 2015.

*“En todas las actividades es saludable,
de vez en cuando,
poner un signo de interrogación sobre aquellas cosas
que por mucho tiempo se han dado como seguras”.*
Bertrand Russell (1872 - 1970)

CONCLUSIONES

1. Con el presente trabajo de investigación se obtuvieron núcleos de Fe de tamaño nanoparticulado a partir de una modificación del procedimiento reportado por McCormick et. al, en el molino oscilatorio Retsch 2000. Después de analizar los resultados obtenidos por caracterizaciones EM, DRX y VSM, se concluyó que las mejores condiciones para obtener NPs de Fe metálico son: relación masa reactivos – esferas de molienda de 1:16, tiempo de molienda 6 horas, atmósfera de trabajo de argón y empleando las cantidades estequiométricas de reactivos. También se comprobó que el procedimiento para la disolución de las sales de Mg y Na, presentes en los productos de reacción, con agua miliQ, separación magnética y posterior secado dentro de la cámara de atmósfera inerte controlada resultó satisfactorio.
2. Se logró escalar el proceso de obtención de núcleos de Fe metálico en el molino planetario Pulverisette 7 hasta una masa 16 veces mayor que la obtenida en el modelo Retsch 2000. La producción máxima se obtuvo para la relación de masas 1:6. La reacción se completó luego de 24 h de molienda y permitió obtener 1.6 g de Fe por lote en cada reactor. Por otro lado, se observó una disminución en la M_s de todas las muestras medidas luego del proceso de disolución de las sales, también se demostró que se obtuvo Fe metálico cristalino y se comprobó que el proceso de disolución de sales es adecuado.
3. Con las medidas de difracción de electrones se logró evidenciar la presencia del recubrimiento de Fe_3O_4 sobre los núcleos de Fe. Esta capa es responsable de darle biocompatibilidad a las nanopartículas Fe/ Fe_3O_4 y permite su posterior estabilización electrostática con citrato de sodio o ácido cítrico.
4. Se logró obtener el sistema estabilizado Fe/ Fe_3O_4 @CitNa el cual tiene un tamaño medio entre 12 nm y 18 nm y presenta valores de potencial Z del orden de -40 mV. Después de las caracterizaciones hechas por TEM y SAXS se encontró que este sistema presenta una considerable polidispersidad, propia del proceso de mecano-síntesis. Esta última característica no representa un impedimento para las potenciales aplicaciones en hipertermia magnética, ya que se obtuvieron elevados valores de SAR del orden de 600 W/gFe en muestras concentradas y del orden de 1.2 kW/gFe en muestras diluidas, empleando un campo de RF de 52.44 kA/m y 260 kHz.
5. Se encontró que la M_s del sistema Fe/ Fe_3O_4 @CitNa es del orden de 130 emu/gFe, la cual se encuentra en el rango de valores reportados en la literatura. También se evidenció una disminución gradual de la M_s en cada una de las etapas de producción, desde la síntesis de los núcleos de Fe hasta la obtención del coloide estabilizado Fe/ Fe_3O_4 @CitNa.
6. Con los estudios hechos por DLS y SAXS se encontró que el sistema Fe/ Fe_3O_4 @CitNa tiende a formar aglomerados, esto se puede atribuir a

intensidad no despreciable de las interacciones dipolares, intensificadas por la alta M_s del sistema.

7. Se pudo hacer una separación magnética, mediante la cual se fraccionó el coloide en clases con distintos tamaños de partícula. Sin embargo, este procedimiento debe ser perfeccionado.
8. Las pruebas de viabilidad celular permiten pensar que el sistema $\text{Fe}/\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CitNa}$ tiene potenciales aplicaciones en biomedicina, ya que se obtuvieron porcentajes de viabilidad de hasta un 80%. Se logró internalizar células con el sistema $\text{Fe}/\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CitNa}$, 1.3 pgFe/célula para una concentración de 116 $\mu\text{gFe/mL}$.

AGRADECIMIENTOS

Desde hace muchos años tenía la idea de que en algún momento iba a vivir en Argentina. No sé si ese deseo nació a la tierna edad de 5 años cuando en el mundial del '86 vi a Maradona hacer el mejor gol de todos los tiempos de los mundiales, o en mi adolescencia cuando Soda Stéreo, Fito, Calamaro, Spinetta y Charly García me hicieron admirar el rock argentino, o quizás, en mi época universitaria cuando conocí la obra de Piazzolla, Borges, Cortázar, Quino, Fontanarrosa. Al final, la fecha es lo menos importante, ya que pude cumplir ese sueño que siempre tuve.

Después de 5 años de vivir y crecer académicamente, y sobretodo, personalmente en este país, solo puedo tener palabras de agradecimiento. En primera instancia, para mi primera familia, ya que considero que soy un afortunado que tiene tres. Don Guillermo y doña Beatriz, así como mis hermanos, siempre me apoyaron en todas las decisiones y proyectos que he emprendido en mi vida, casi todos lejos de ellos y viéndolos solamente una vez por año, o dos veces, cuando había un poco de suerte. Ese apoyo incondicional ha sido indispensable en todas las etapas de mi vida.

Como escribí anteriormente, considero que tengo tres familias, y aquí es cuando debo agradecer a la segunda familia que me dio la vida en este hermoso país. Esta familia está encabezada por Quique, y se conforma además por Coralinho, Peter, Gus, Marce, Juanito, Diana, Nacho, Nico, Dani, Lore, Andrea, Odíncho, Marcos, Andrew, Luis.. Quienes me ayudaron incondicionalmente, y en todo momento, desde que empecé a hacer esta tesis doctoral en el Instituto de Física. Hay un proverbio chino que dice: "Si caminas solo irás más rápido; si caminas acompañado, llegarás más lejos". La generosidad que tuvieron conmigo, hizo que no solo llegara rápido, sino que además llegara lejos en esta tesis doctoral. Esa generosidad hizo que me tuvieran como prioridad en muchos experimentos, viajes y asesorías, sin las cuales no hubiese sido posible desarrollar esta investigación. En este punto quiero agradecer especialmente a Quique por creer en mí, además, por su infinita paciencia en la orientación que me brindó en todo este tiempo. Debo destacar que Quique siempre me transmitió tranquilidad, sobretodo cuando las cosas no iban de la mejor manera. Esa tranquilidad hizo que este viaje que pudo ser muy tortuoso, terminara de la mejor manera.

Ahora viene mi tercera familia, la cual se conforma por muchos hermanos los cuales inicialmente fueron amigos. Este grupo de hermanos se fue conformando con las salidas a jugar fútbol, tomar cerveza (y/o alguna bebida alcohólica más) y asados. En este grupo de hermanos está el viejo Richard, quien nunca aprendió a tirar bien un centro de costado jugando fútbol. También está Ferchito, que jamás perdió su alma de central y me desesperó muchas veces porque no se decidía a patear al arco. También está Leandro, Meyra, Efrén, Shon y el Flaquito. Todos ellos hicieron que estos 5 años en Argentina fueran muy agradables. Les agradezco, sobretodo, la ayuda que me brindaron en los momentos malos, que es cuando realmente se conoce a las personas que tienen aprecio por uno. No puedo olvidar a mis amigos los cuales son muchos, afortunadamente. Destaco a la monita, Zuly, Julie, Yisus, Fátima, Luciana, el gato, Álvarez, Camilo, Alejo, Fede, Coco, Julio, Aleja, Flor, Caro Marino, Nadia, Karo, Prüne, Mati, Nasly, Arles, Azucena, el colo, Lore Rebón, Karen, Laura, Mariela, Sebastián.. Siendo los 8 últimos, orgullosos socios fundadores de la comunidad "borrachos sin

fronteras”, como olvidar esas reuniones, bueno, de hecho, algunos las olvidaron literalmente.

Finalmente vienen los agradecimientos académicos. En esta instancia debo agradecer profundamente a la Dra. Marisa Baab quien me ayudó en todas las gestiones académicas por las cuales pude terminar el doctorado, sin su ayuda simplemente no hubiera tenido ni siquiera la oportunidad de defender mi tesis doctoral. Agradezco al Dr. Rodolfo “el Chufo” Borzi, por recibirme cuando recién llegué de Colombia y quien fue la persona que me brindó la oportunidad de presentarme en las becas doctorales de CONICET. También a la Dra. Silvia Jacobo quien me asesoró en el crecimiento de la capa de magnetita sobre los núcleos de hierro, al Quím. Pablo Tancredi por su asesoría en la estabilización con citrato de sodio, a Marcela por las medidas de DLS, potencial Z, TEM y difracción de electrones que hizo en Barcelona, a la Biol. Paula Andrea Soto que hizo los experimentos en sistemas biológicos en la Universidad de Buenos Aires, al Dr. Diego Muraca por las medidas de HR-TEM, y a los Dres. Marcos Meyer y Luis Mendoza, así como al Lic. Andrés Biasetti, por la orientación en el manejo de los equipos necesarios para hacer la mecano-síntesis.

APÉNDICE 1

Gráficas de las curvas M vs H de las distintas moliendas hechas durante la presente investigación. Medición hecha con muestras de Fe más sales.

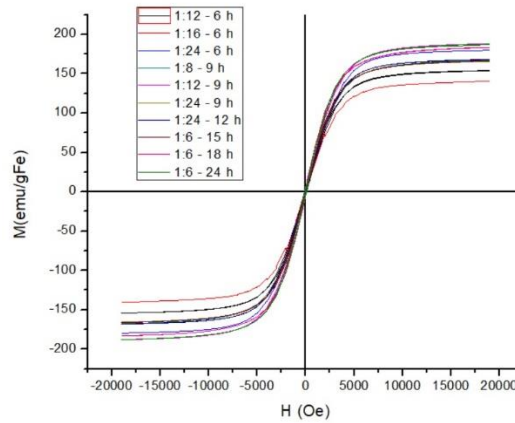


Fig. 1.1. Curvas M vs H de las muestras de Fe más sales.

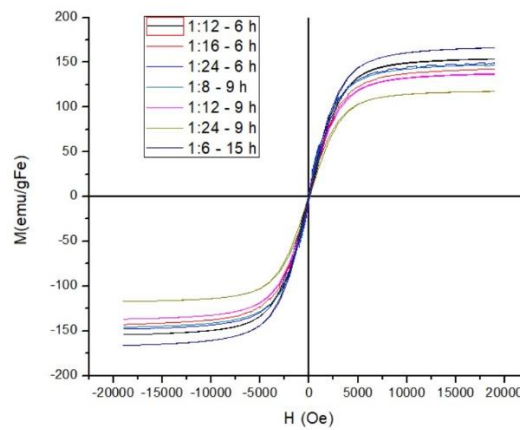


Fig. 1.2. Curvas M vs H de las muestras de Fe.

Ajustes de las curvas M vs H con el modelo de campo alto en muestras de **Fe más sales**.

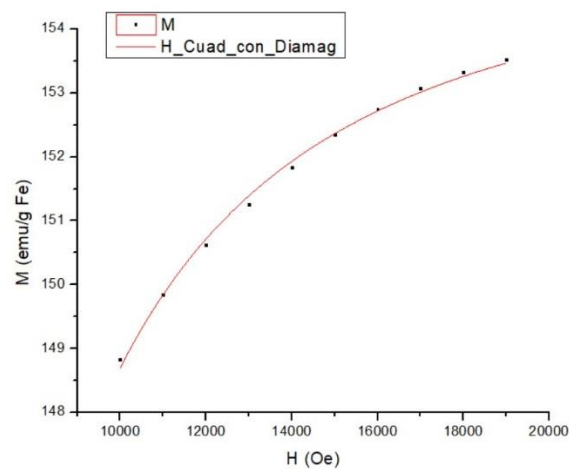


Fig. 1.3. Ajuste de la muestra obtenida con el molino Retsch 2000 con Mg al 100%.

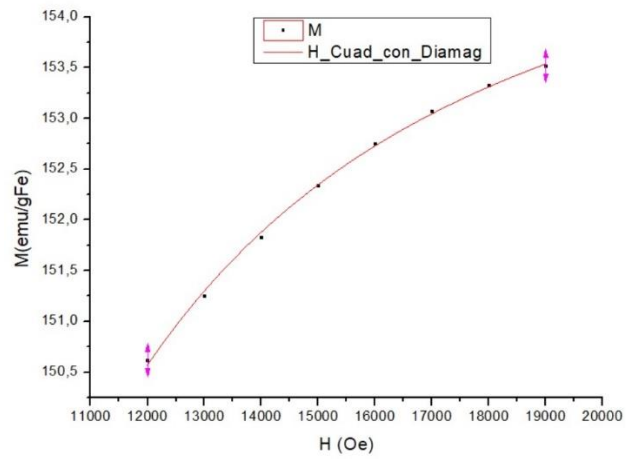


Fig. 1.4. Ajuste de la muestra con relación de masas 1:12 y 6 h de molienda.

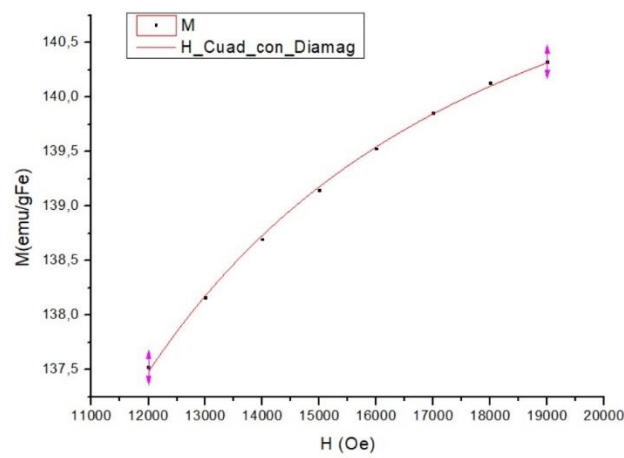


Fig. 1.5. Ajuste de la muestra con relación de masas 1:16 y 6 h de molienda.

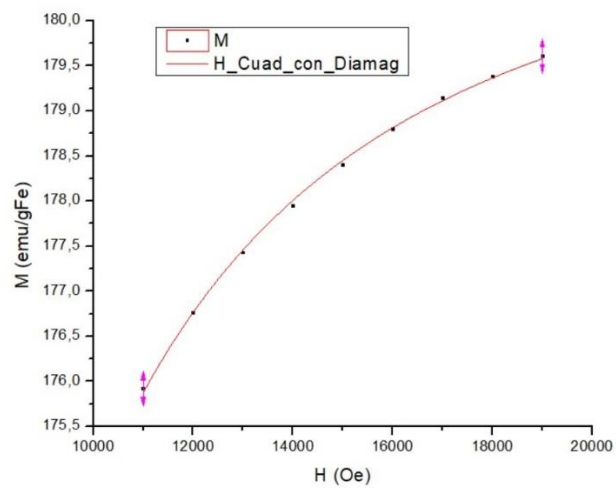


Fig. 1.6. Ajuste de la muestra con relación de masas 1:24 y 6 h de molienda.

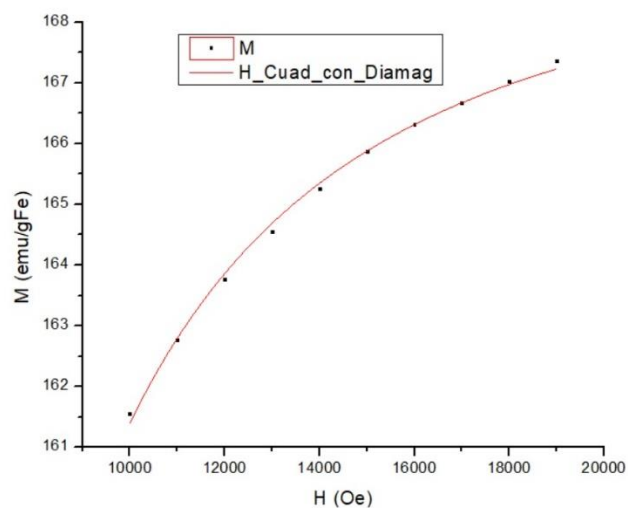


Fig. 1.7. Ajuste de la muestra con relación de masas 1:8 y 9 h de molienda.

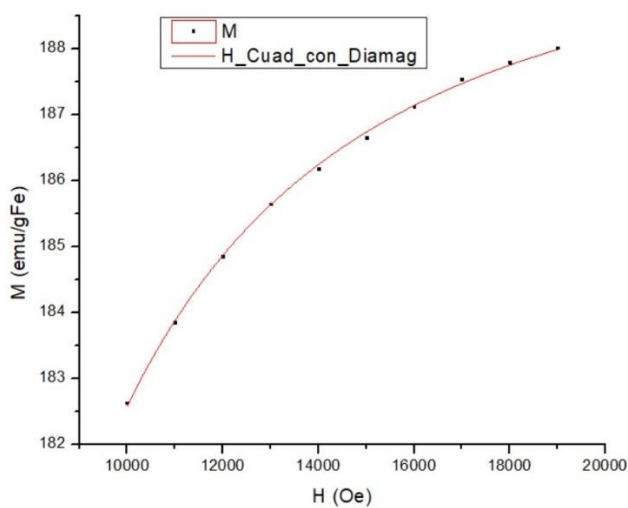


Fig. 1.8. Ajuste de la muestra con relación de masas 1:12 y 9 h de molienda.

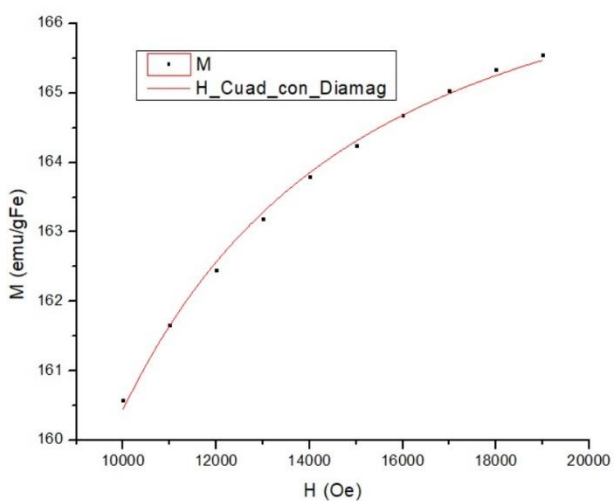


Fig. 1.9. Ajuste de la muestra con relación de masas 1:24 y 9 h de molienda.

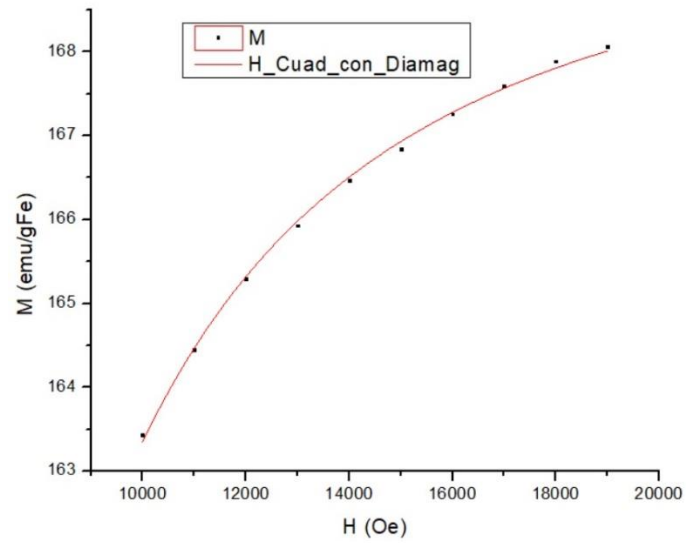


Fig. 1.10. Ajuste de la muestra con relación de masas 1:24 y 12 h de molienda.

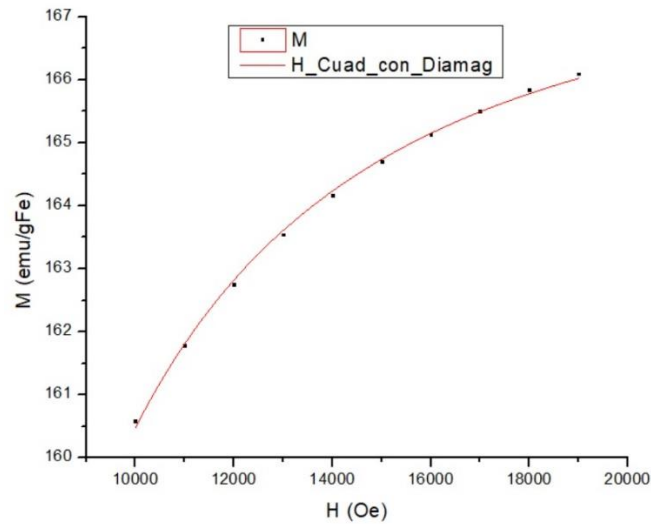


Fig. 1.11. Ajuste de la muestra con relación de masas 1:6 y 15 h de molienda.

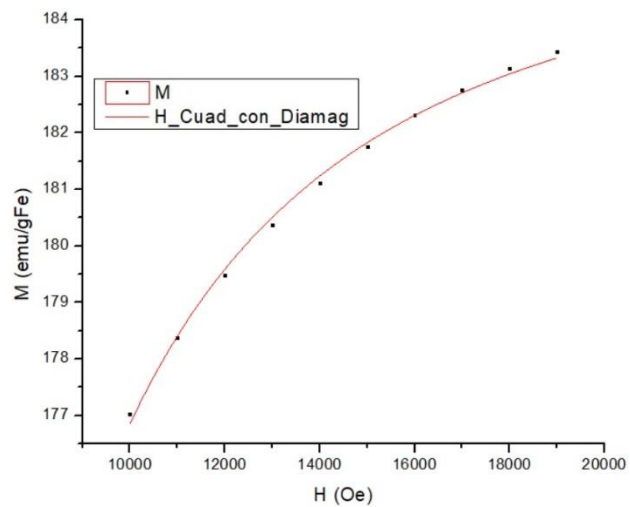


Fig. 1.12. Ajuste de la muestra con relación de masas 1:6 y 18 h de molienda.

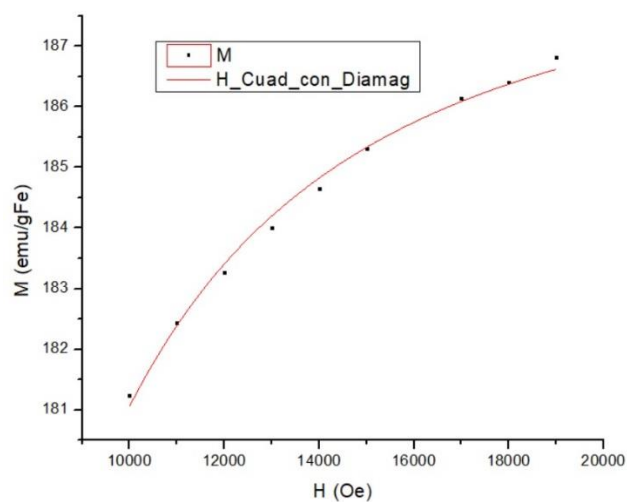


Fig. 1.13. Ajuste de la muestra con relación de masas 1:6 y 24 h de molienda.

Ajustes de las curvas M vs H con el modelo de campo alto en muestras de **Fe sin sales**.

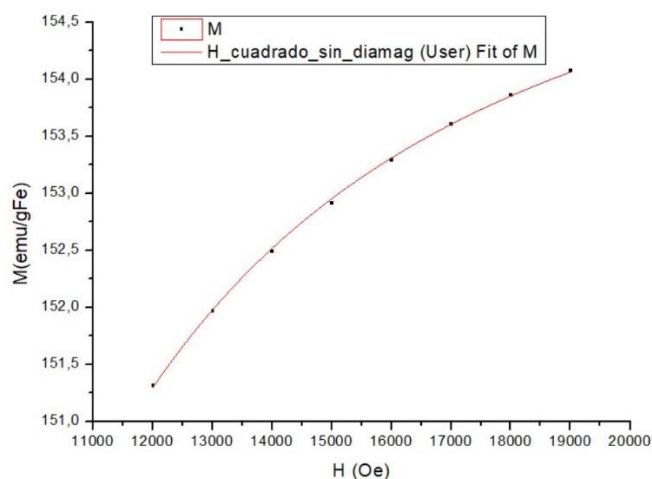


Fig. 1.14. Ajuste de la muestra con relación de masas 1:12 y 6 h de molienda.

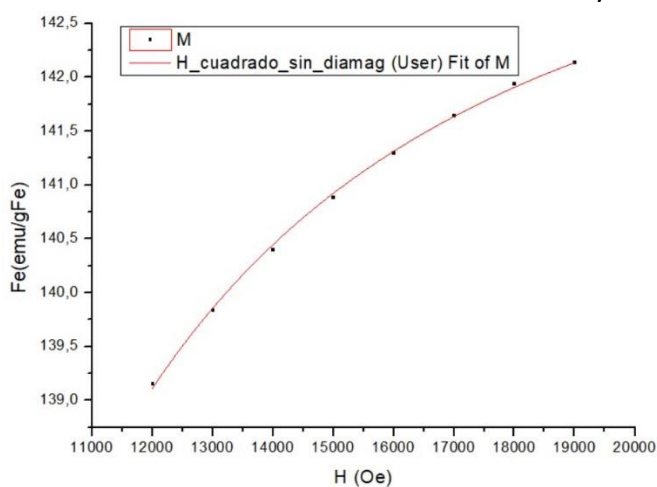


Fig. 1.15. Ajuste de la muestra con relación de masas 1:16 y 6 h de molienda.

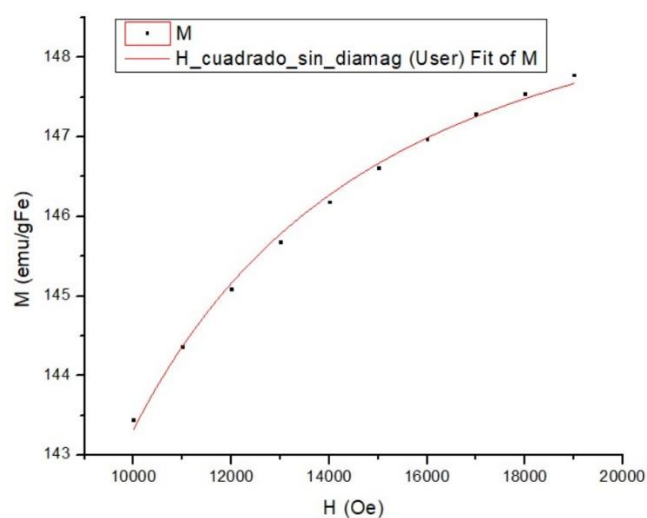


Fig. 1.16. Ajuste de la muestra con relación de masas 1:24 y 6 h de molienda.

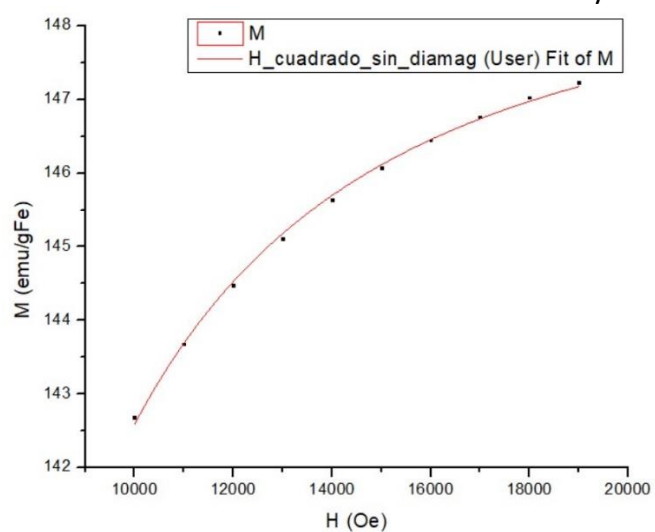


Fig. 1.17. Ajuste de la muestra con relación de masas 1:8 y 9 h de molienda.

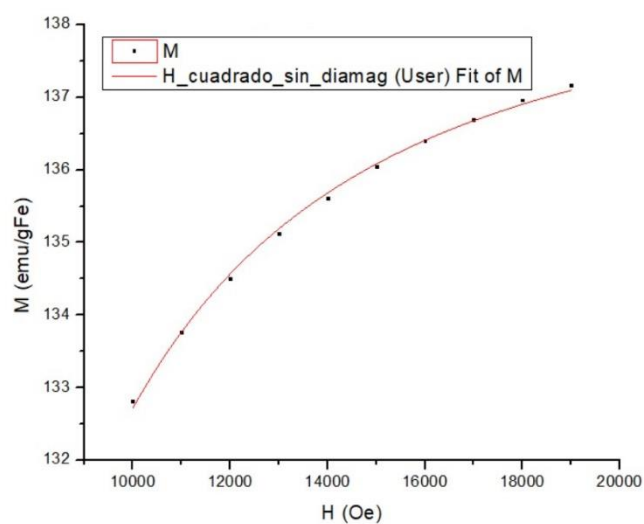


Fig. 1.18. Ajuste de la muestra con relación de masas 1:12 y 9 h de molienda.

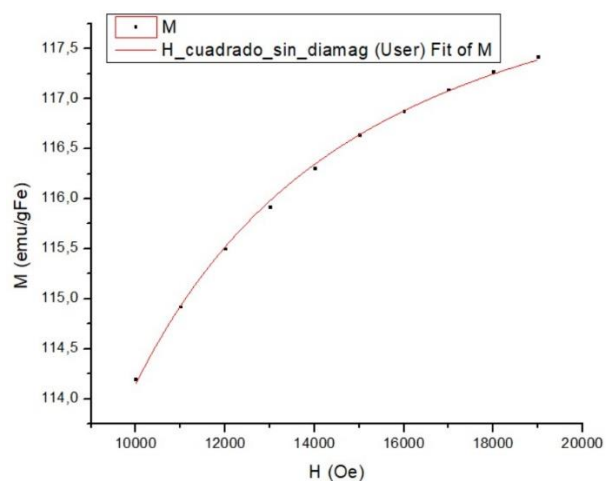


Fig. 1.19. Ajuste de la muestra con relación de masas 1:24 y 9 h de molienda.

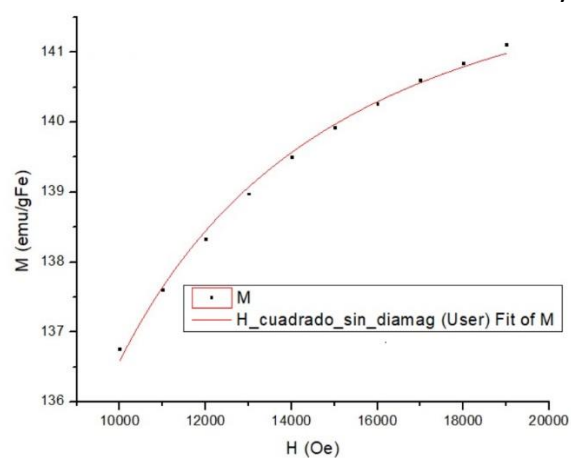


Fig. 1.20. Ajuste de la muestra con relación de masas 1:6 y 15 h de molienda.

APÉNDICE 2

- Seguimiento etapas muestra Fe6HP03

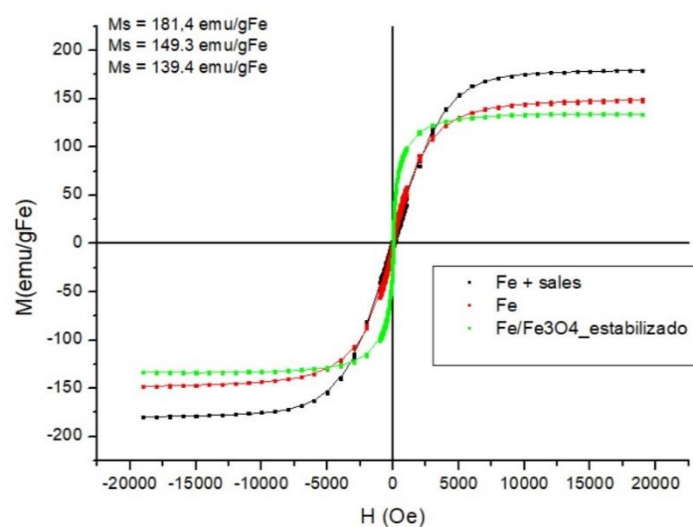


Fig. 2.1. Curvas M vs H muestra Fe6HP03.

- Seguimiento etapas muestra Fe9HP01

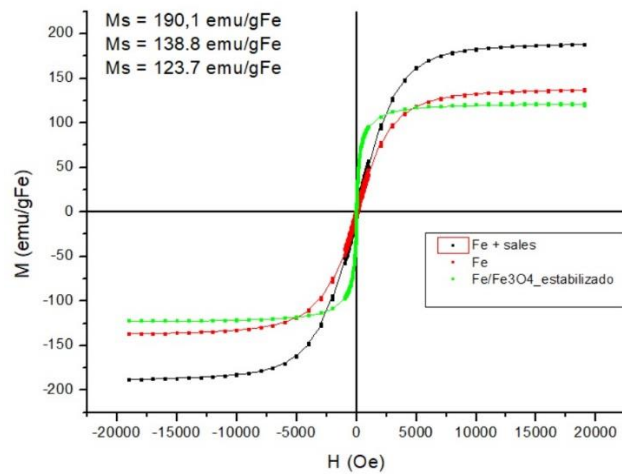


Fig. 2.2. Curvas M vs H muestra Fe9HP01.

APÉNDICE 3

Ajustes de las distribuciones de tamaño de los diámetros magnéticos.

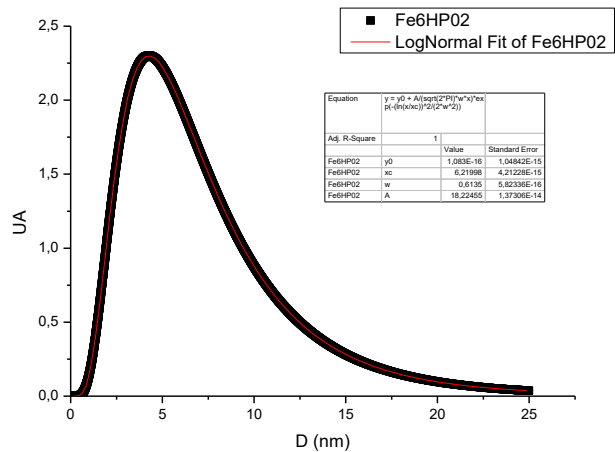


Fig. 3.1. Ajuste de la muestra Fe6HP02.

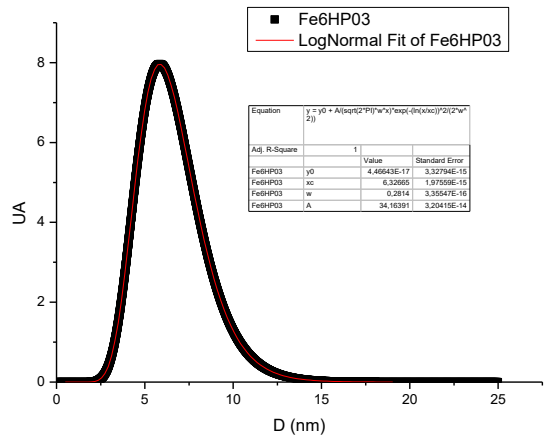


Fig. 3.2. Ajuste de la muestra Fe6HP03.

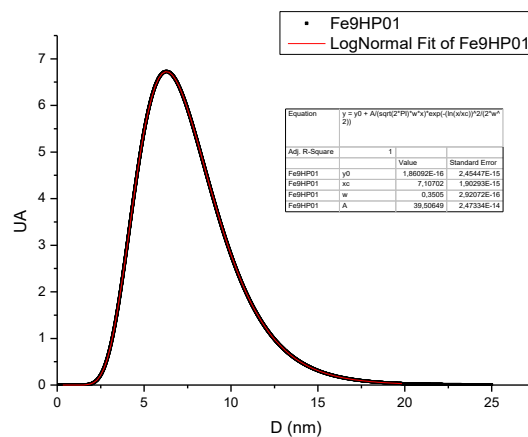


Fig. 3.3. Ajuste de la muestra Fe9HP01.

APÉNDICE 4

Histogramas de los sistemas estabilizados durante la presente tesis.

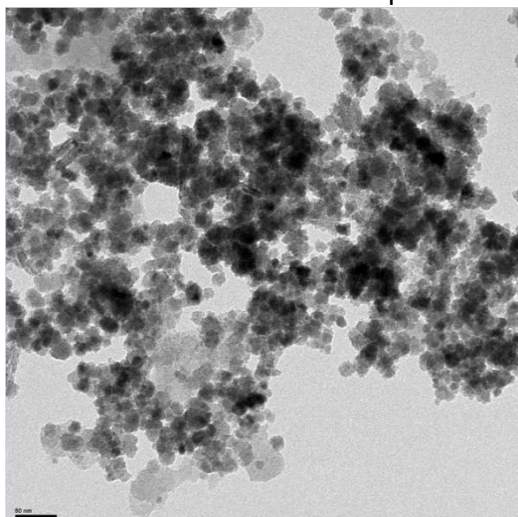


Fig. 4.1. Imagen de TEM modelo para conteo de partículas. Relación 1:12 y 9 h de molienda.

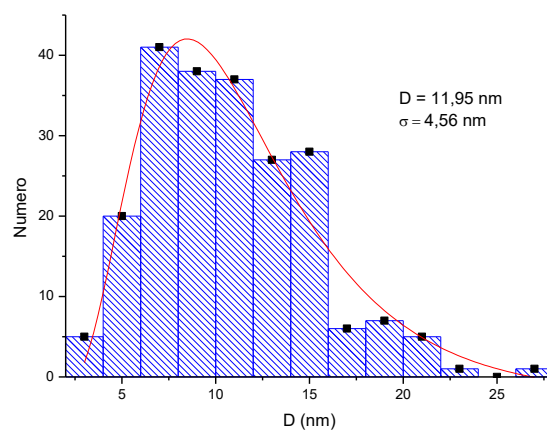


Fig. 4.2. Sistema Fe/Fe₃O₄@CitNa obtenido con Fe metálico de la relación 1:12 y 9 h de molienda.

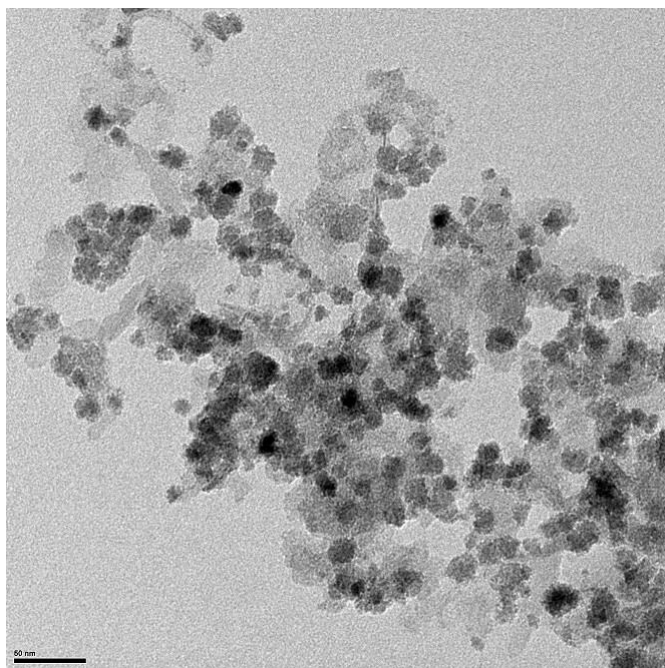


Fig. 4.3. Imagen de TEM modelo para conteo de partículas. Relación 1:24 y 6 h de molienda.

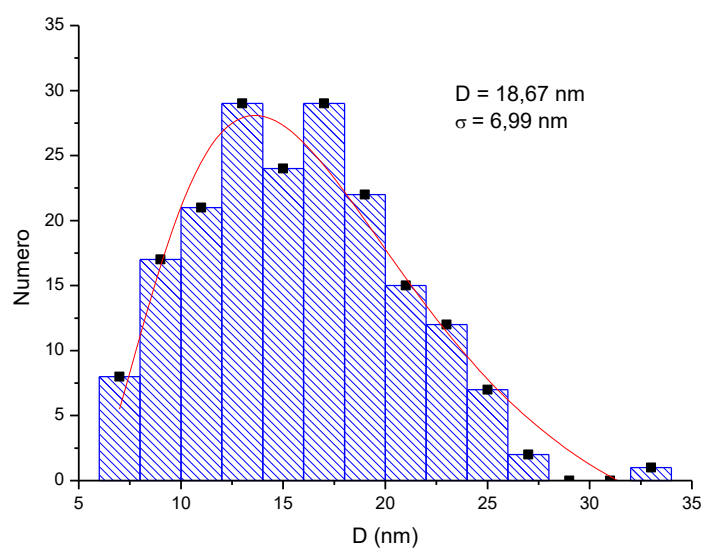


Fig. 4.4. Sistema Fe/Fe₃O₄@CitNa obtenido con Fe metálico de la relación 1:24 y 6 h de molienda.

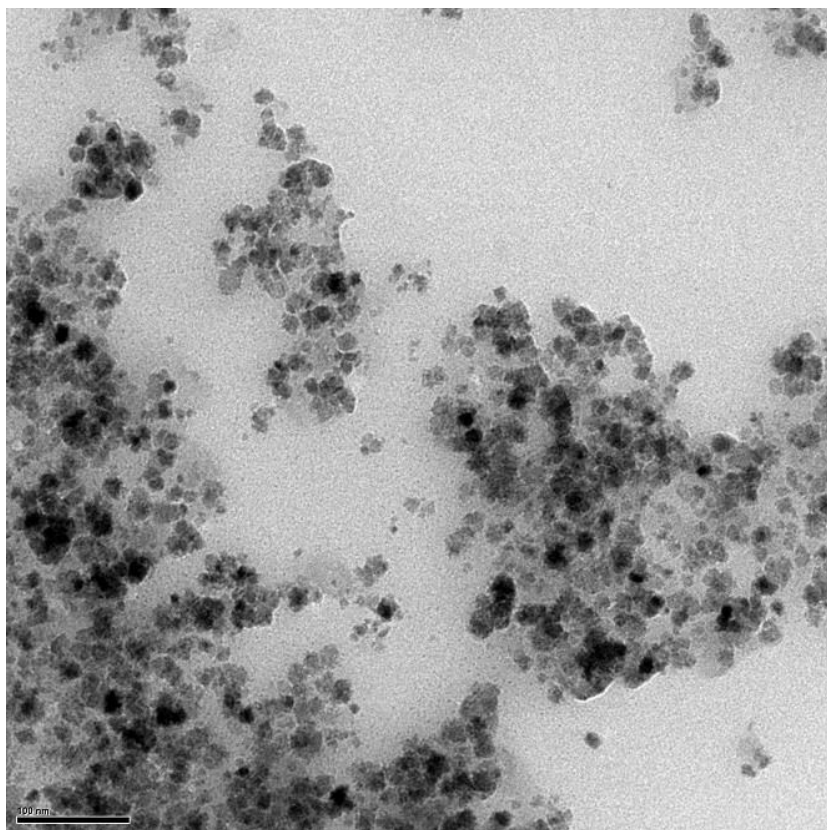


Fig. 4.5. Imagen de TEM modelo para conteo de partículas. Relación 1:24 y 9 h de molienda.

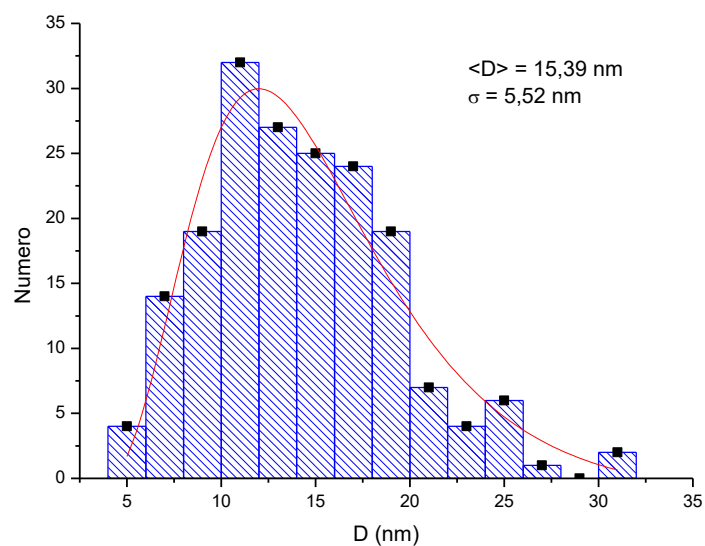


Fig. 4.6. Sistema Fe/Fe₃O₄@CitNa obtenido con Fe metálico de la relación 1:24 y 9 h de molienda.

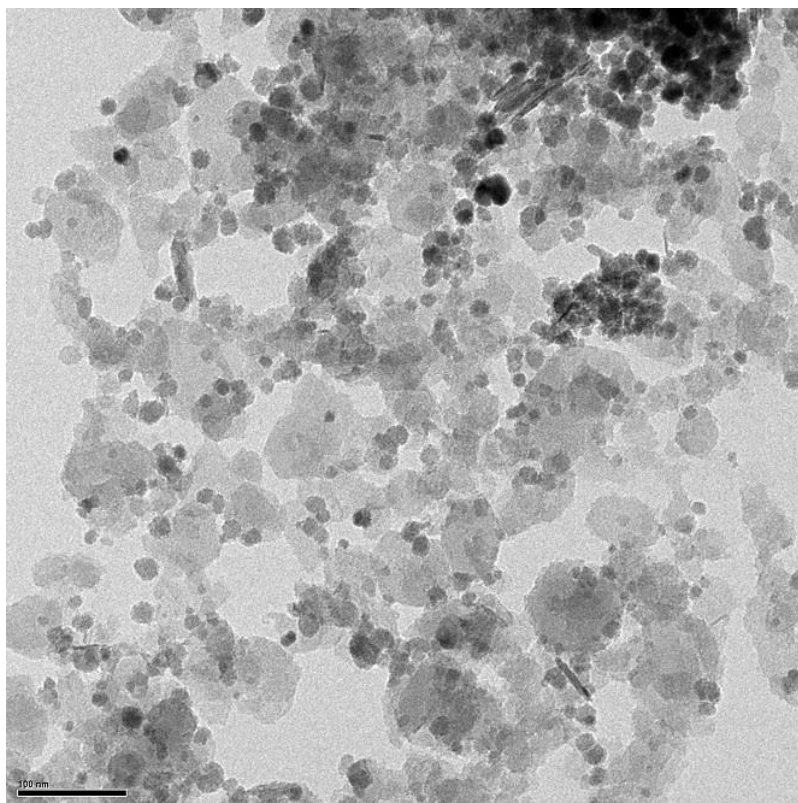


Fig. 4.7. Imagen de TEM modelo para conteo de partículas. Relación 1:24 y 12 h de molienda.

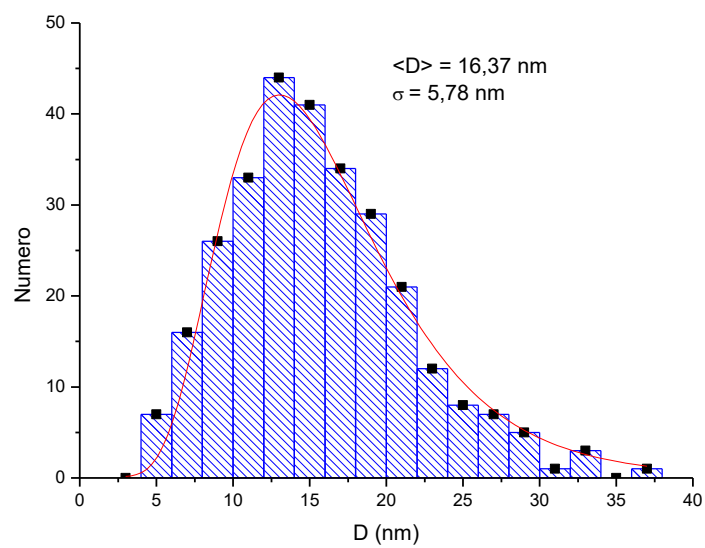


Fig. 4.8. Sistema Fe/Fe₃O₄@CitNa obtenido con Fe metálico de la relación 1:24 y 12 h de molienda.

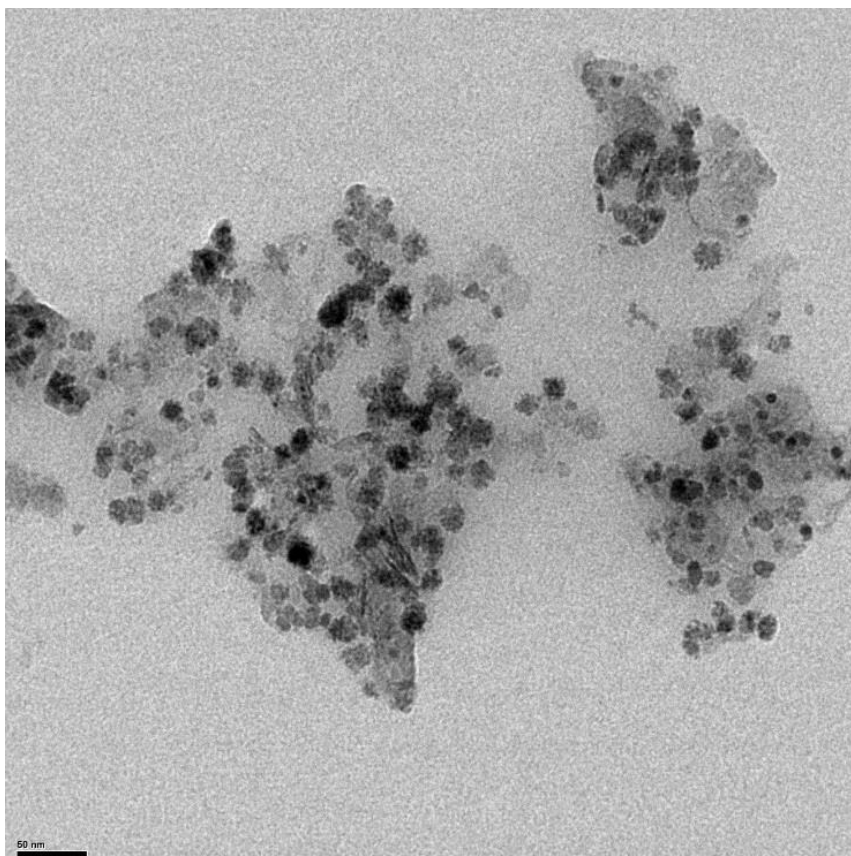


Fig. 4.9. Imagen de TEM modelo para conteo de partículas muestra Fe6HP03_1.

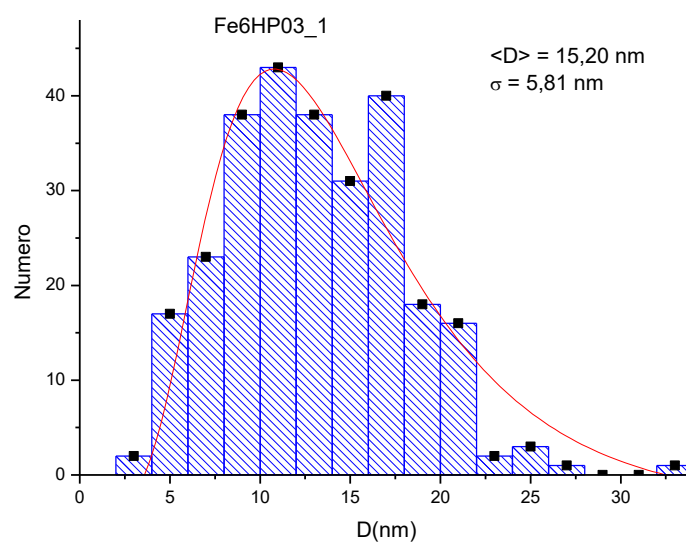


Fig. 4.10. Sistema Fe6HP03_1.

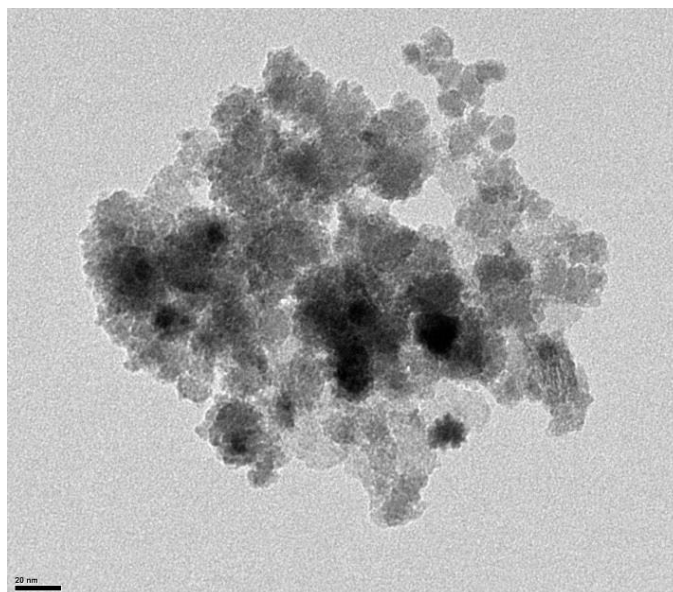


Fig. 4.11. Imagen de TEM modelo para conteo de partículas muestra Fe6HP03_3.

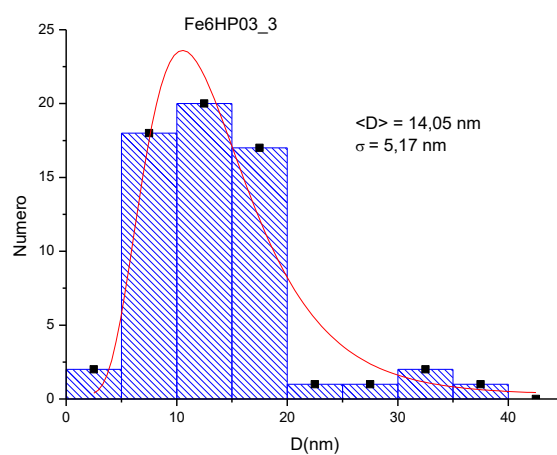


Fig. 4.12. Sistema Fe6HP03_3.

APÉNDICE 5

- Difracción de electrones de la muestra Fe6HP03_1.

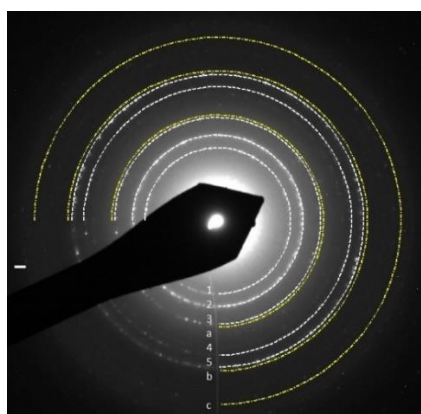


Fig. 5.1. Muestra Fe6HP03_1

- Difracción de electrones de la muestra Fe6HP03_3.

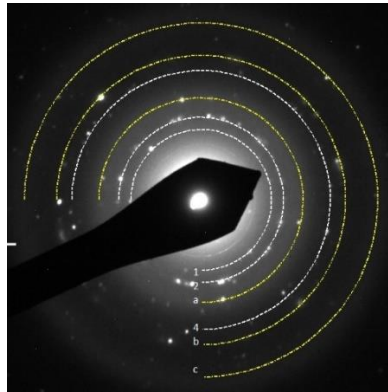


Fig. 5.2. Muestra Fe6HP03_3.

- Difracción de electrones de la muestra Fe9HP01.

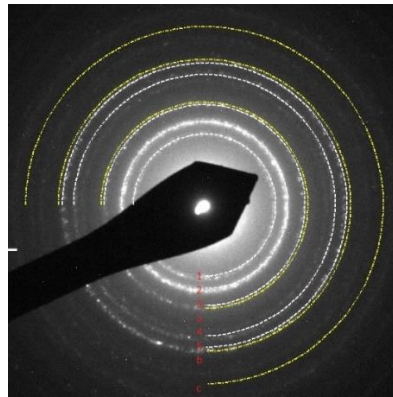


Fig. 5.3. Muestra Fe9HP01.

APÉNDICE 6

- En las Fig. 6.1 y 6.2, se presentan los $d(\text{ZFC-FC})/dT$ de las muestras Fe9HP01, Fe6HP03_puro, Fe6HP03_1 y Fe6HP03_3 medidas en polvos. La temperatura del pico a bajas temperaturas está alrededor de 16 K en todos los casos.

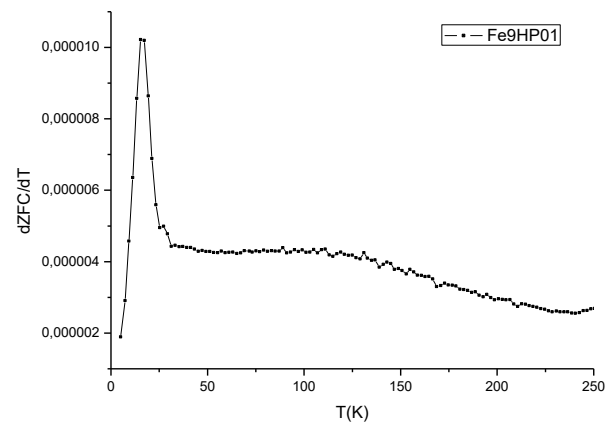


Fig. 6.1. $d(\text{ZFC-FC})/dT$ en la muestra Fe9HP01.

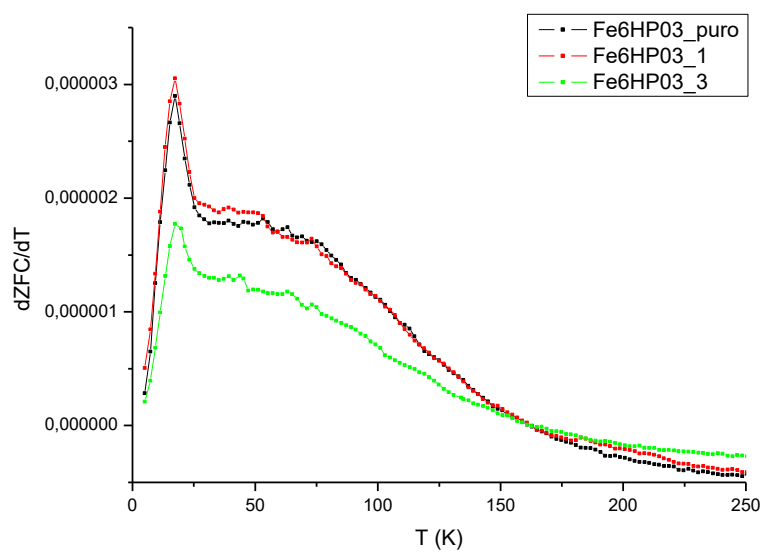


Fig. 6.2. $d(\text{ZFC-FC})/dT$ en la muestra Fe6HP03_puro, Fe6HP03_1 y Fe6HP03_3.

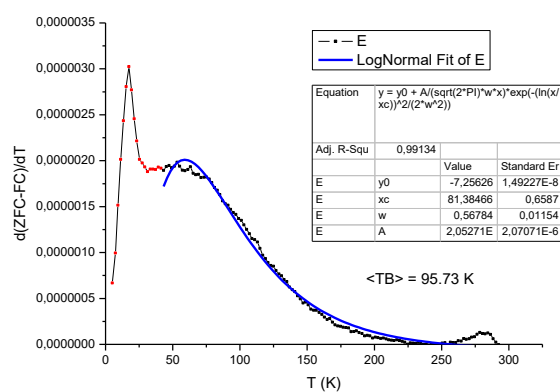


Fig. 6.3. Ajuste de la $d(\text{ZFC-FC})/dT$ en la muestra Fe6HP03_puro en polvo.

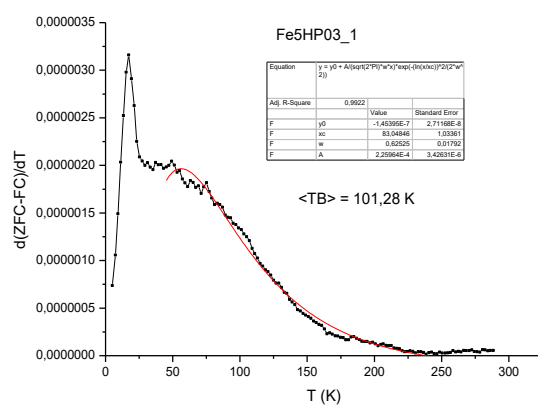


Fig. 6.4. Ajuste de la $d(\text{ZFC-FC})/dT$ en la muestra Fe6HP03_puro en polvo.

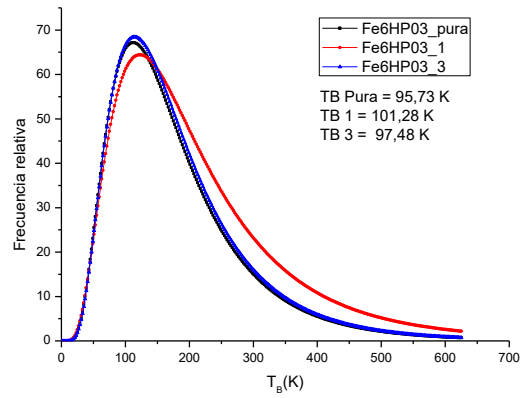


Fig. 6.5. Distribución de T_B de las muestras Fe6HP03_puro, Fe6HP03_1 y Fe6HP03_3 en polvo.

- En las Fig. 6.6 y 6.7, se presentan los $d(ZFC-FC)/dT$ de las muestras Fe9HP01, Fe6HP03_puro, Fe6HP03_1 y Fe6HP03_3 medidas en suspensión. La temperatura del pico a bajas temperaturas está alrededor de 16 K en todos los casos.

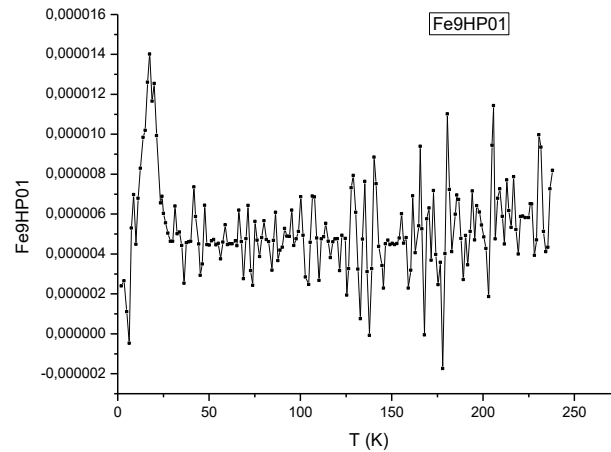


Fig. 6.6. $d(ZFC-FC)/dT$ en la muestra Fe9HP01.

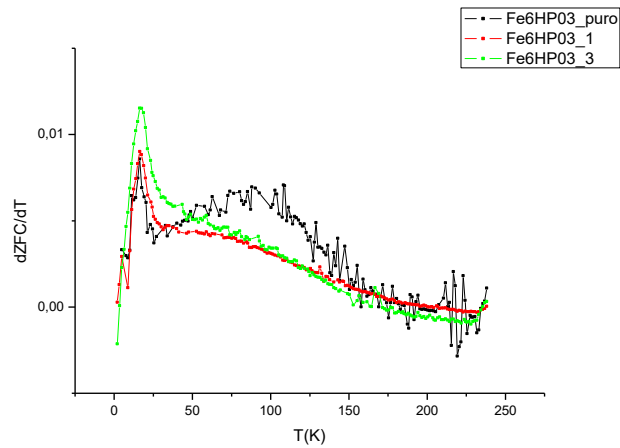


Fig. 6.7. $d(ZFC-FC)/dT$ en la muestra Fe6HP03_puro, Fe6HP03_1 y Fe6HP03_3.

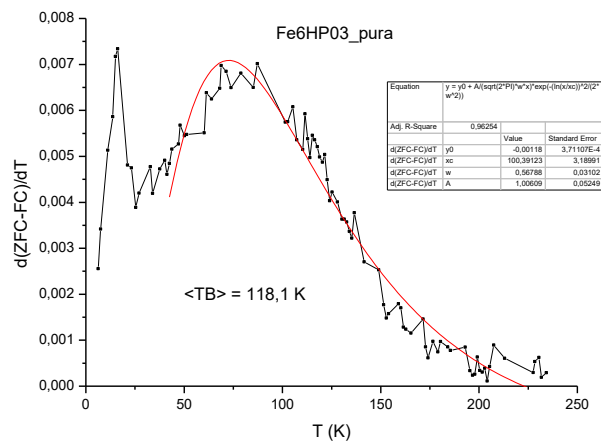


Fig. 6.8. Ajuste de la $d(\text{ZFC-FC})/dT$ en la muestra Fe6HP03_puro encapsulada.

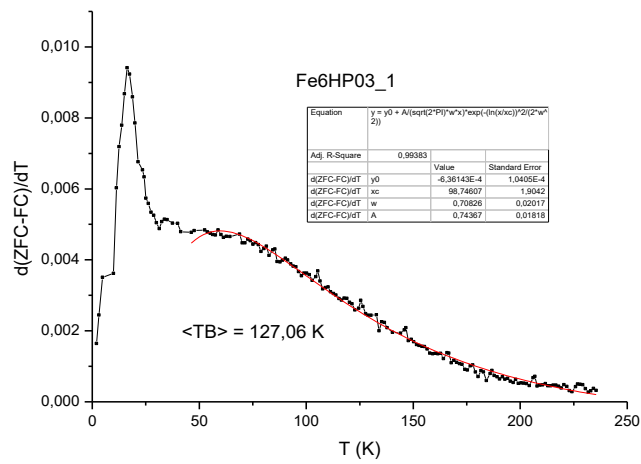


Fig. 6.9. Ajuste de la $d(\text{ZFC-FC})/dT$ en la muestra Fe6HP03_1 encapsulada.

Medidas de M vs H variando temperatura.

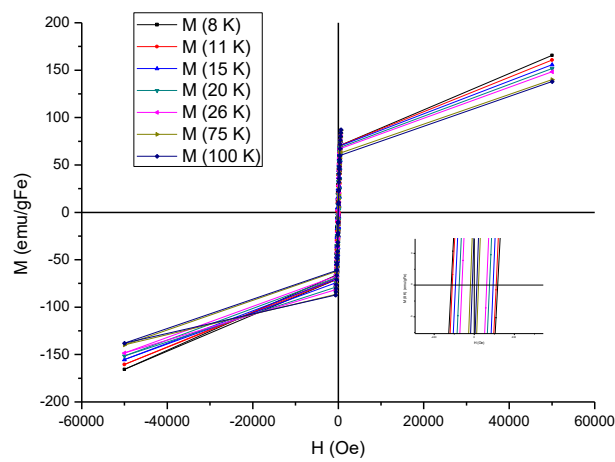


Fig. 6.10. Medidas M vs H variando T .

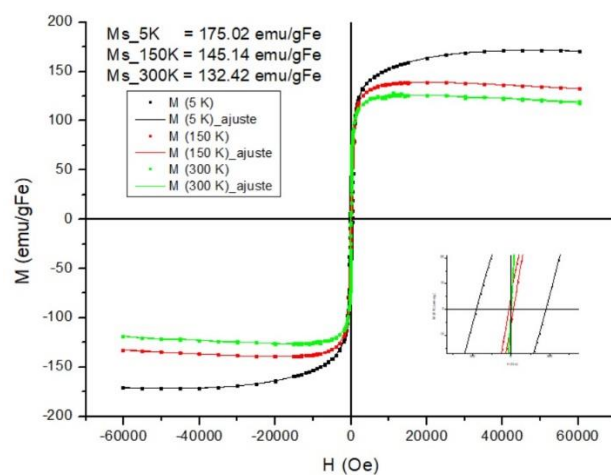


Fig. 6.11. Medidas M vs H variando T .

APÉNDICE 7

Medidas SAXS muestras Fe6HP03 y Fe9HP01.

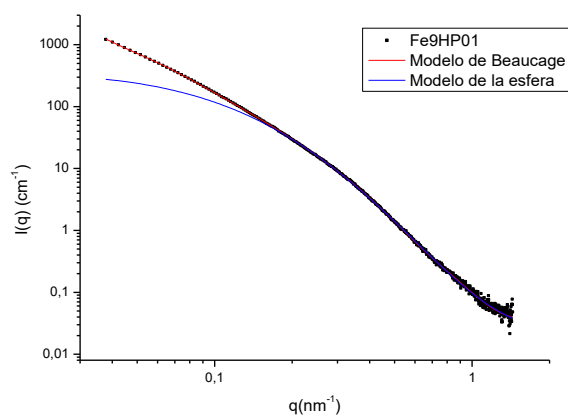


Fig. 7.1. Medida SAXS de las muestras Fe6HP03 y Fe9HP01.

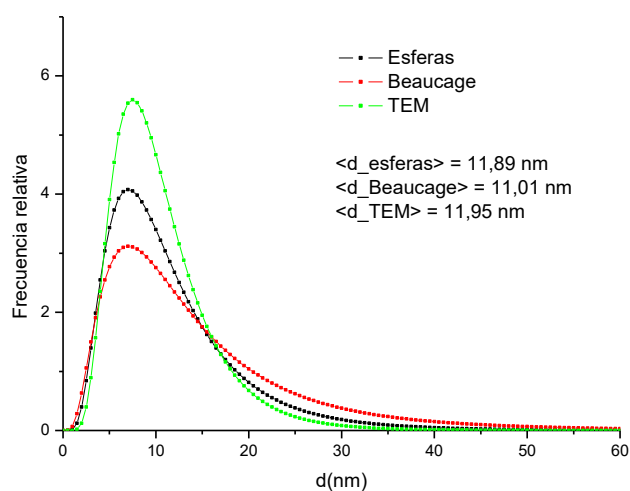


Fig. 7.2. Comparación entre las distribuciones obtenidas por SAXS y la obtenida por TEM en la muestra Fe9HP01.

APÉNDICE 8

Ajustes de los diámetros hidrodinámicos de las muestras medidas por DLS.

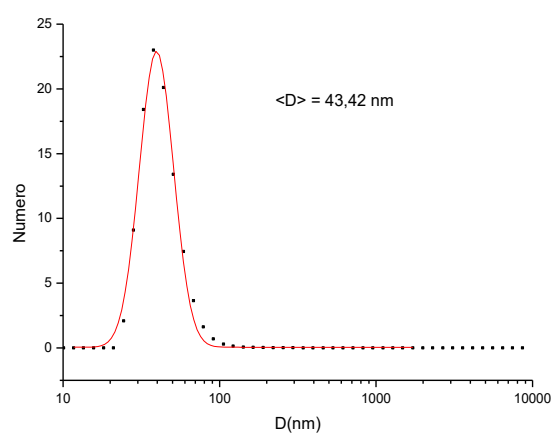


Fig. 8.1. Ajuste del diámetro hidrodinámico de la muestra Fe6HP03_pura.

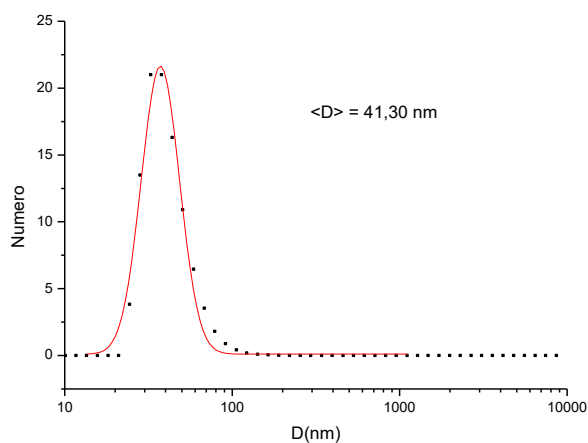


Fig. 8.2. Ajuste del diámetro hidrodinámico de la muestra Fe6HP03_1.

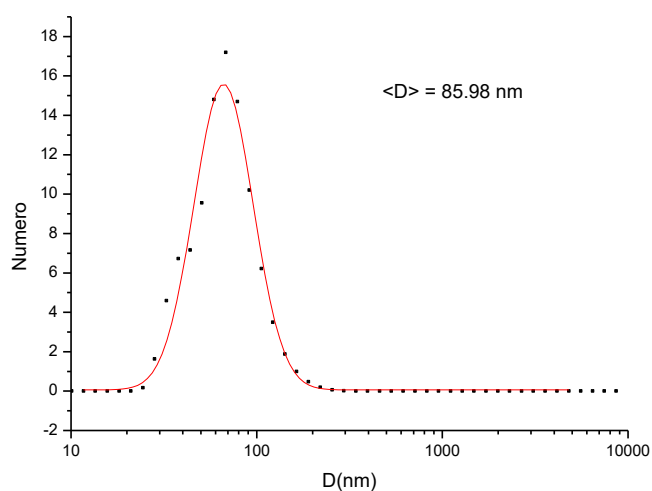


Fig. 8.3. Ajuste del diámetro hidrodinámico de la muestra Fe6HP03_3.

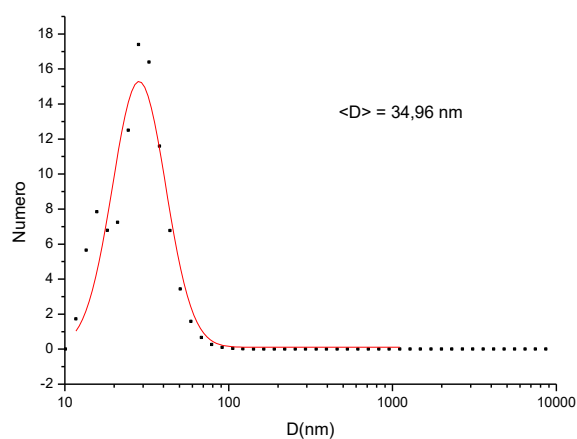


Fig. 8.4. Ajuste del diámetro hidrodinámico de la muestra Fe9HP03, relación de masas 1:24.

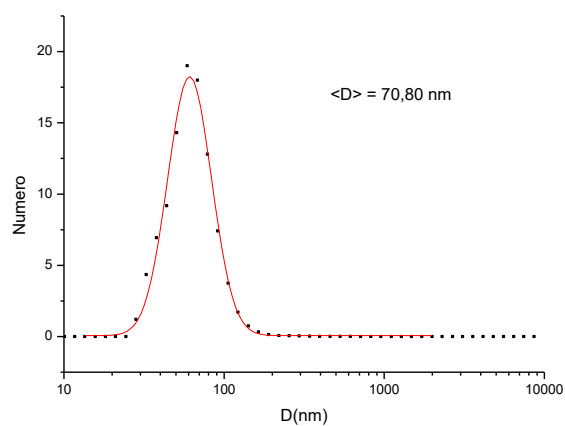


Fig. 8.5. Ajuste del diámetro hidrodinámico de la muestra Fe12HP03, relación de masas 1:24.

APÉNDICE 9

Curvas de SAR y de saturación de los distintos coloides estabilizados.

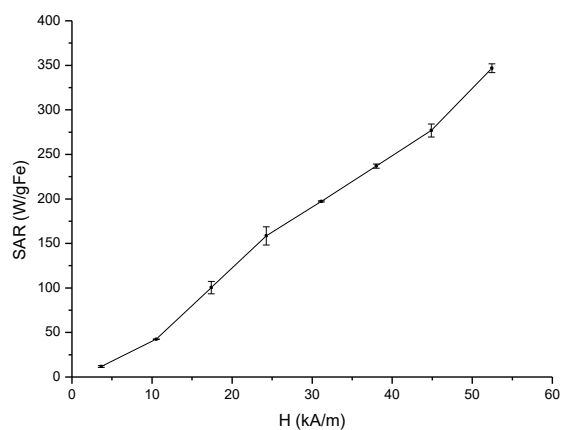


Fig. 9.1. Medida del SAR variando campo en la muestra Fe6HP03.

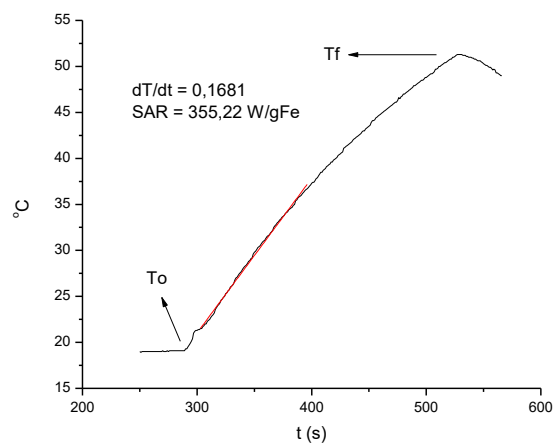


Fig. 9.2. Medida de saturación en la muestra Fe6HP03.

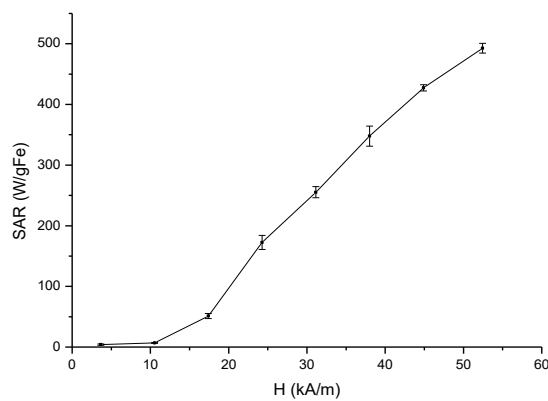


Fig. 9.3. Medida del SAR variando campo en la muestra Fe9HP01.

APÉNDICE 10

Estudio del SAR en función de la concentración.

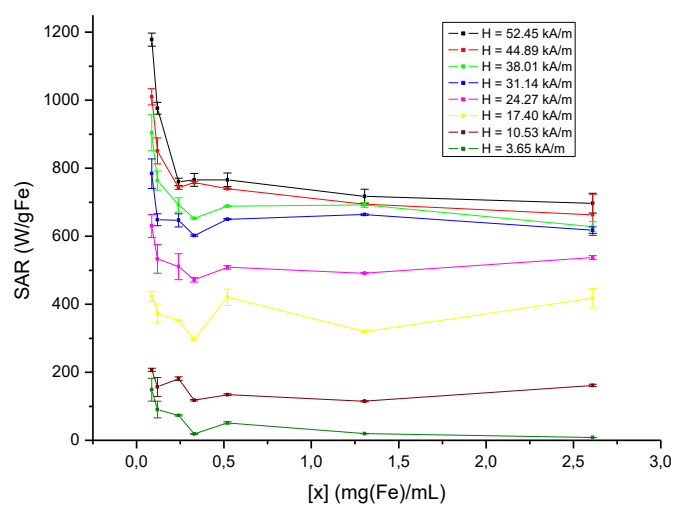


Fig. 10.1. Estudio del SAR en función de la concentración a distintos campos aplicados.